

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
**Katedra farmaceutické technologie**  
studijní program: farmacie



**Nanovláknenné membrány jako nosiče léčiv 2.**  
**Polyvinylalkohol, chitosan, kyselina (D,L)**  
**polymléčná**

**Nanofiber membranes as carriers of drugs 2.**  
**Polyvinylalcohol, chitosan, (D,L) polylactic acid**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Hana Bidmonová**

Vedoucí diplomové práce:  
doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.

**Hradec Králové 2009**

Prohlašuji, že tato diplomová práce je mým původním autorským dílem a veškeré myšlenky, data a jejich zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpala, řádně cituji.

Děkuji doc. RNDr. Pavlu Doležalovi, CSc., Mgr. Pavlu Berkovi, p. Janě Fendrichové  
za odborné vedení a pomoc při vypracování předkládané diplomové práce.

# OBSAH

<b>1. ÚVOD</b>	<b>6</b>
<b>2. CÍL PRÁCE</b>	<b>8</b>
<b>3. TEORETICKÁ ČÁST</b>	<b>9</b>
3.1 Přehled LP pro transdermální aplikaci uvedených v AISLP	9
3.2 Netkaná textilie <sup>5,6</sup>	11
3.3 Elektrospining	13
3.3.1 Historie <sup>7,8</sup>	14
3.3.2 Princip a schematická sestava	16
3.3.3 Parametry elektrospiningu	18
3.3.4 Typy elektrospiningu	23
3.3.5 Materiály	24
3.3.6 Vlastnosti vláken	24
3.3.7 Použití nanovláknenných materiálů připravených elektrospiningem <sup>7,8</sup>	26
3.4 Polymery	28
3.4.1 Polyvinylalkohol	28
3.4.2 Chitosan	30
3.4.3 Kyselina polymléčná	32
3.5 TAHOVÉ ZKOUŠKY	34
3.5.1 Česká technická norma ČSN EN ISO 13934 <sup>32</sup>	34
<b>4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b>	<b>37</b>
4.1 Suroviny	37
4.2 Testovaný materiál	37
4.3 Přístroje	41
4.4 Biologický materiál <sup>33,34</sup>	41
4.4.1 Zpracování biologického materiálu	42
4.4.2 Příprava biologického materiálu pro permeační pokusy	42
4.5 Příprava roztoků, suspenzí	43
4.5.1 Příprava roztoku s azidem sodným	43
4.5.2 Příprava tromethamolového pufru	44
4.5.3 Příprava 5% suspenze kofeinu	44
4.5.4 Příprava mobilní fáze pro HPLC stanovení kofeinu	44

4.5.5	Příprava kofeinových standardů.....	45
4.5.6	Příprava 3% kofeinového základu AdS : IPM (8:2) .....	45
4.6	Tahové zkoušky .....	46
4.7	Smáčivost a kontaktní úhel .....	47
4.8	Nasákavost .....	48
4.9	Liberačně-permeační experiment.....	48
4.9.1	Provedení pokusu .....	48
4.9.2	Liberačně-permeační pokus.....	50
4.9.3	Výběr vehikula pro napuštění membrán.....	51
4.9.4	Příprava membrán pro permeační pokusy .....	54
4.9.5	Schéma provedení permeace .....	55
4.9.6	HPLC stanovení kofeinu .....	56
4.9.7	Zpracování dat získaných při HPLC stanovení .....	59
<b>5.</b>	<b>DOKUMENTACE .....</b>	<b>60</b>
5.1	Tahové zkoušky .....	60
5.2	Kontaktní úhel .....	73
5.3	Liberačně-permeační pokus.....	75
<b>6.</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>	<b>108</b>
6.1	Tahové zkoušky .....	108
6.2	Smáčivost a kontaktní úhel .....	115
6.2.1	Smáčivost.....	115
6.2.2	Kontaktní úhel .....	115
6.3	Nasákavost .....	116
6.4	Liberačně-permeační pokus.....	117
<b>7.</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>121</b>
<b>8.</b>	<b>SOUHRN.....</b>	<b>123</b>
<b>9.</b>	<b>ABSTRACT.....</b>	<b>124</b>
<b>10.</b>	<b>SEZNAM GRAFŮ .....</b>	<b>125</b>
<b>11.</b>	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ.....</b>	<b>126</b>
<b>12.</b>	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>127</b>
<b>13.</b>	<b>SEZNAM ZKRATEK.....</b>	<b>128</b>
<b>14.</b>	<b>SEZNAM LITERATURY .....</b>	<b>130</b>

# 1. ÚVOD

Nanotechnologie jako vědní obor zabývající se cíleným vytvářením a využíváním struktur materiálů, které jsou alespoň v jednom rozměru velikostně na úrovni několika nanometrů, zaznamenávají v posledních deseti letech enormní rozvoj. Nalézají uplatnění v mnoha oblastech jako je elektronika, strojírenství, stavebnictví, chemický průmysl, textilní průmysl, elektrochemický průmysl, optický průmysl, automobilový průmysl, kosmický průmysl, vojenský průmysl, životní prostředí a v neposlední řadě také zdravotnictví. V oblasti farmacie a medicíny mohou ovlivnit zejména výzkum struktur léčiv, podání léků do organismu, metody zobrazování a diagnostiky, terapii, chirurgickou techniku, tkáňové inženýrství a tvorbu implantátů, včetně aktivních, ale také obvazový materiál, ochranné oděvy a roušky.

V oblasti farmacie se očekává velký přínos především v miniaturizaci aplikačních soustav pro cílený transport biologicky aktivních látek a jejich nosičů. Nové systémy podání léčiv do organismu mají za cíl co nejmenší zásah do integrity těla, cílenou terapii specifických druhů tkání, zvýšení účinnosti léčiv a optimalizaci biologické dostupnosti a také minimalizovat rozklad léčiva, snížit dávku léčiva a snížit výskyt vedlejších účinků. Vývoj těchto systémů vede jednak směrem ke korpuskulárním a jednak k vlákněným formám v podobě membrán, resp. fólií.

Na vývoji nanotechnologie v oblasti medicíny a farmacie se v České republice podílí nejen výzkumná pracoviště Akademie věd České republiky a univerzit (Technická univerzita v Liberci, Univerzita Palackého v Olomouci), ale také výrobní podniky a společnosti (Interpharma Praha, a.s.; Zentiva, a.s.; Alteredmed Corporation, a.s.; Biomedica, s.r.o.; Elmarco, s.r.o., Liberec).

Na Katedře farmaceutické technologie UK-FAF začal výzkum v oblasti nanovlákněných membrán, jejich vybraných fyzikálních a biofarmaceutických vlastností. Tento výzkum probíhá v rámci společného projektu s firmou Elmarco, která se zabývá výrobou a prodejem technologie Nanospider pro průmyslovou výrobu nanovlákněných netkaných textilií, výzkumem a vývojem materiálů a finálních produktů z nanovláken.

Předkládaná diplomová práce je součástí projektu, na kterém je založeno více diplomových prací<sup>1,2,3</sup>. Představuje prvotní příspěvek k řešení této problematiky a podává dílčím způsobem malou část výzkumného projektu. Další kroky budou

následovat po vyhodnocení dosavadních prací na téma Nanovláknenné membrány jako nosiče léčiv.

## 2. CÍL PRÁCE

Cílem teoretické části je poskytnout informace o netkaných textíliích, nanovlákních a jejich výrobě, o použitých zkušebních metodách a polymerech, ze kterých jsou připraveny zkušební membrány.

Experimentální část měla za úkol seznámit se s vybranými vlastnostmi nanovláknenných membrán vyrobených v laboratořích firmy Elmarco, tyto vlastnosti proměřit a vyhodnotit jako základní informace o těchto materiálech pro další zpracování.

Součástí tohoto cíle byly zadány jako cíle dílčí, některé byly stanoveny před začátkem práce a další byly stanoveny v průběhu testování a přizpůsobeny vývoji experimentu. Konkrétně je lze formulovat takto:

1. Určit, jakým způsobem se bude při charakterizaci materiálu postupovat.
2. Vybrat, jakým způsobem bude materiál zkoušen, jakým zkouškám bude materiál podroben a přizpůsobit výběr charakteristik metodám a přístrojům, které jsou na katedře k dispozici.
3. Výsledky získané při fyzikálních zkouškách využít k realizaci liberačně-permeačního pokusu.
4. Provést liberačně-permeační pokus jako zkoušku, která by mohla vypovědět o možném použití membrány v oblasti transdermální aplikace léčiv a v oblasti cílené distribuce léčiv a jejich nosičů.



### 3. TEORETICKÁ ČÁST

#### 3.1 Přehled LP pro transdermální aplikaci uvedených v AISLP

Na základě potenciálního použití testovaných membrán v oblasti transdermální aplikace léčiv byly v databázi AISLP<sup>4</sup> nalezeny a shrnuty transdermální přípravky ve formě transdermálních náplastí (DRM EMP TDR) rozdělené dle indikačních skupin a účinných látek (**Tabulka 1**).

**Tabulka 1: Přehled LP pro transdermální aplikaci uvedených v AISLP<sup>4</sup>**

indikační skupina	účinná látka	název léčivého přípravku
psychostimulancia	rivastigmin	Exelon 4,6MG/24H, Exelon 9,5MG/24H, Prometax 9,5MG/24H
antiparkinsonika	rotigotin	Neupro 1MG/24H, Neupro 2MG/24H, Neupro 3MG/24H, Neupro 4MG/24H, Neupro 6MG/24H, Neupro 8MG/24H, Neupro 2MG/24H+4MG/24H+6MG/24H+8MG/24H
antirevmatika, antiflogistika	diklofenak	Flector EP TISSUGEL
parasimpatolytika	oxybutinin	Kentera
hormony	estradiol	Climara 25, Climara 50, Climara 100, Dermestril 25, Dermestril 50, Dermestril 100, Dermestril-Septem 25, Dermestril-Septem 50, Dermestril-Septem 75, Estraderm MX 25, Estraderm MX 50, Estraderm MX 100, Estraderm TTS 25, Estraderm TTS 50, Estraderm TTS 100, Estradot 25, Estradot 37,5, Estradot 50, Estradot 75, Estradot 100, Estrahexal 25, Estrahexal 50, Estrahexal 100, Estrahexal Uno 50, Estrahexal Uno 100, Estrapatch 40MCG/24hodin, Estrapatch 60MCG/24hodin, Estrapatch 80MCG/24hodin, System 25, System 50
	estradiol a norethisteron	Estalis 50/140, Estalis 50/250, Estalis Sequi 50/250, Sequidot, System Conti, System Sequi
	ethinylestradiol a norgestromin	Evra

	testosteron	Intrinsa 300MCG/24, Livensa 300MCG/24, Testopatch 1,2MG/24H, Testopatch 1,8MG/24H, Testopatch 2,4MG/24H
analgetika-anodyna	buprenorfin	Norspan 5MCG/H, Norspan 10MCG/H, Norspan 20MCG/H, Transtec 35MCG/H, Transtec 52,5MCG/H, Transtec 52,5MCG/H, Transtec 70MCG/H
	fentanyl	Dolforin 25MCG/H, Dolforin 50MCG/H, Dolforin 75MCG/H, Dolforin 100MCG/H, Durogesic 12MCG/H, Durogesic 25MCG/H, Durogesic 50MCG/H, Durogesic 75MCG/H, Durogesic 100MCG/H, Fentagesic 25MCG/H, Fentagesic 50MCG/H, Fentagesic 75MCG/H, Fentagesic 100MCG/H, Fentahexal 25, Fentahexal 50, Fentahexal 75, Fentahexal 100, Fentalis 12,5MCG/H, Fentalis 25MCG/H, Fentalis 25MCG/H, Fentalis 50MCG/H, Fentalis 75MCG/H, Fentalis 100MCG/H, Fentanyl Actavis 25MCG/H, Fentanyl Act. 50MCG/H, Fentanyl Act. 75MCG/H, Fentanyl Act. 100MCG/H, Fentanyl Regiomedica 12,5MCG/H, Fentanyl Regio. 25MCG/H, Fentanyl Regio. 50MCG/H, Fentanyl Regio. 75MCG/H, Fentanyl Regio. 100MCG/H, Fentanyl Sandoz 12,5MCG/H, Fentanyl San. 25MCG/H, Fentanyl San. 50MCG/H, Fentanyl San. 75MCG/H, Fentanyl San. 100MCG/H, Fentanyl San.150MCG/H, Fentanyl-Ratiopharm 12,5MCG/H, Fentanyl-Ratio 25MCG/H, Fentanyl-Ratio 50MCG/H, Fentanyl-Ratio 75MCG/H, Fentanyl-Ratio 100MCG/H, Fentanyl-Ribosepharm 25MCG/H, Fentanyl-Ribos. 50MCG/H, Fentanyl-Ribos. 75MCG/H, Fentanyl-Ribos.100MCG/H, Fentarom 25MCG/H, Fentarom 75MCG/H, Fentarom 50MCG/H, Fentarom 75MCG/H, Fentarom 100MCG/H, Matrifen 12 MCG/H, Matrifen 25 MCG/H, Matrifen 50 MCG/H, Matrifen 75 MCG/H, Matrifen 100 MCG/H,
různé	nikotin	Nicopatch 7MG/24H, Nicopatch 14MG/24H, Nicopatch 21MG/24H, Nicorette invisipatch 10, Nicorette invisipatch 15, Nicorette invisipatch 25, Nicorette náplast 5MG/16H, Nicorette náplast 10MG/16H, Nicorette náplast 15MG/16H, Nicorette patch 5MG/16H, Nicorette patch 10MG/16H, Nicorette patch 15MG/16H, Nicorette patch set 10MG/16H, Nicorette patch set 15MG/16H, Nicorette patch set 25MG/16H, Nicotinell 7MG, Nicotinell 14MG, Nicotinell 21MG, Nicotinell TTS 10, Nicotinell TTS 20, Nicotinell TTS 30, Niquitin clear 7MG, Niquitin clear 14MG, Niquitin clear 21MG, Niquitin CQ 7MG, Niquitin CQ 14MG, Niquitin CQ 21MG

### 3.2 Netkaná textilie<sup>5,6</sup>

Netkaná textilie (NT) je definována jako vrstva vyrobená z jednosměrně nebo náhodně orientovaných vláken, spojených třením a/nebo kohezí a/nebo adhezí s výjimkou papíru a výrobků vyrobených tkaním, pletením, všíváním, proplétáním nebo plstěním. Základním rozdílem výroby netkané textilie oproti textílii vyrobené tkaním nebo pletením je přímé zpracování suroviny na vláknennou vrstvu bez jakékoliv potřeby výroby nitě.

Netkané textilie mají v oblasti textílií a textilního průmyslu dominantní postavení. Jejich výroba zaznamenává v posledních letech roční nárůst celosvětově 6 %, tedy velmi markantní ve srovnání s ostatními druhy textílií, jejichž výroba stagnuje nebo se jen pozvolna zvyšuje. Je to dáno především ekonomickou výhodností a pronikáním výrobků do stále dalších oblastí využití. NT zahrnují rozsáhlé spektrum výrobků získaných různými technologiemi a majících různé vlastnosti dle zamýšleného použití.

#### Výroba

Surovinami pro výrobu netkaných textílií jsou v převážné většině polymery, jejichž vlastnosti vyplývající z chování makromolekulárních látek umožňují vytvářet typické vláknenné struktury s požadovanými vlastnostmi v závislosti na způsobu použití. K výrobě se dají použít běžně vyráběné vláknenné suroviny (s velkým počtem modifikací) a také recyklované textilní odpady, sekundární vláknenné suroviny získané z technologických odpadů v textilním a oděvním průmyslu a ze sběrných textílií. Používají se vlákna jak syntetická, především polypropylen a polyester, tak vlákna přírodního původu, na něž připadá zhruba 1 % z celkového množství. Textilní vlákna se mohou kombinovat s kovy, minerály a ostatními látkami.

Postup výroby netkaných textílií zahrnuje přípravu vláknenné suroviny, vlastní výrobní proces skládající se z přípravy a zpevnění vláknenné vrstvy, popřípadě úpravy vyrobené vláknenné vrstvy. Toto schéma nemusí být striktně dodrženo, některé kroky mohou být vynechány nebo sdruženy. Jednotlivé postupy jsou charakterizovány různou produktivitou a vlastnostmi vyrobené vrstvy především objemností, rovnoměrností a orientací vláken, z níž plynou vlastnosti výrobků.

Příprava vláknenné vrstvy se dá realizovat několika způsoby, z nichž nejznámější jsou:

A. Příprava mokrou cestou neboli hydrodynamická výroba spočívá ve smočení a dispergaci vláken ve vodě. Vzniklá vláknenná suspenze se přivede k sítu, na kterém dochází k filtraci suspenze, odsávání vody, sušení, ždímání vláknenné vrstvy.

B. Příprava suchou cestou se provádí:

- mechanickým způsobem založeným na využití mechanických rozvolňovacích účinků. Spočívá ve vytvoření vláknenné pavučiny prostřednictvím mykacího stroje (soustava pracovních válců, která rozvolňuje chomáče vláken, postupně ojednocuje vlákna a uspořádá je do pavučiny) a v jejím vrstvení různým způsobem (podélně, příčně, kolmo).
- aerodynamickým způsobem založeným na využití aerodynamických a odstředivých sil. Představuje rozvolnění vláknenné suroviny pomocí otáčejícího se válce, z něhož jsou vlákna snímána vlivem odstředivé síly a proudy vzduchu, a dopravena na dopravník.
- přímo z polymeru, respektive z jeho taveniny, zahrnující tři typy technologií. Technologie spun-bond, kterou se dnes připravuje přes 40 % vláknenných vrstev pro netkané textilie, spočívá v tavení granulátu, zvlákňování pomocí trysky, odtahu od hubice a rozložení filamentu na pohybující se dopravník. Technologie melt-blown, kterou se běžně připravují mikroválka o průměru 2  $\mu\text{m}$  až 4  $\mu\text{m}$  a kterou se dají připravit i jemnější vlákna (0,1  $\mu\text{m}$ ), zahrnuje tavení polymeru, formování vláken strháváním taveniny proudem vzduchu, chlazení vláken a jejich ukládání na sběrný buben. Technologie elektrospiningu, kterou se běžně připravují vlákna o průměru 1  $\mu\text{m}$  až 20  $\mu\text{m}$  a kterou se dají připravit také nanovláknenné materiály, představuje tavení polymeru, formování vláken prostřednictvím silného elektrického pole a jejich ukládání na sběrnou podložku.

Zpevnění vláknenné vrstvy probíhá mechanickým (vpichování, proplétání, zpevnění paprskem vody), chemickým (pomocí pojiv impregnací, postřikem) nebo termickým způsobem (tavení nanoseného pojiva a zpevnění pojiva

ochlazením-pojení kaladrem, pojení teplovzdušné, ultrazvukem, infračerveným zářením).

Úprava netkané textilie zahrnuje procesy, ke kterým patří především zušlechťování (potiskování, barvení, změkčování, antistatické, hydrofilní, hydrofobní a nehořlavé úpravy), povrstvování lepidly nebo impregnacemi, vrstvení pomocí adheziv, natavování povrchu textilie vyrobené z termoplastických vláken, krepování.

### Vlastnosti

Vlastnosti textilie jsou ovlivněny jednak použitou výrobní technologií a jednak použitou surovinou. Netkané textilie mohou nabývat nejrozličnějších vlastností v závislosti na zamýšleném způsobu použití, zejména různá plošná hmotnost (5 g až 2,5 kg/m<sup>2</sup>), lehkost, objemnost, velikost a tvar vláken, izotropické a anizotropické charakteristiky, filtrační, těsnící a izolační vlastnosti, pevnost za sucha a za mokra, elasticita, pružnost. Patří k nim také sorpční vlastnosti (prodyšnost nebo nepropustnost pro vodu, plyny, prachy, sorpce vůči organickým látkám jako ropné produkty), nehořlavost, sráživost, povrchové vlastnosti (jemnost, hladkost, tvorba elektrostatického náboje, koeficient tření, smáčivost vodou, stupeň splývavosti a odolnost vůči opakovanému stlačování), odolnost vůči chemikáliím, světlu, teplotě, vlhku, mokru, otěru, UV záření, tlaku, atd.

### Použití

Výrobky z netkaných textilií můžeme rozdělit na základě využití do několika skupin řazených sestupně dle objemu výroby: obalové materiály, geotextilie, bytové textilie, filtry, textilie na čištění, vložkové textilie, zdravotnické textilie, obuvnické textilie, elektro a brusné materiály, automobilový průmysl, agrotextilie, oděvní textilie.

## **3.3 Elektrospining**

Elektrospining neboli elektrostatické zvlákňování je jedna z možných metod získávání nanovláknenných netkaných textilií, která pro tvorbu velmi jemných vláken z polymerního roztoku nebo polymerní taveniny využívá existenci elektrického pole. Touto metodou již byly zvlákňovány různé druhy polymerů, přírodní i syntetické. Získaná vlákna mají spoustu významných vlastností a možností využití jako separační membrány, vysoce účinné filtry, biologické aplikace, tkáňové inženýrství.<sup>7</sup>

### 3.3.1 Historie<sup>7,8</sup>

Elektrospining jako proces je znám již přes 100 let. Zájem o něj stoupl teprve v posledních deseti letech, především v souvislosti s možným využitím v tkáňovém inženýrství a transportními systémy léčiv.

Proces elektrospiningu byl popsán a patentován roku 1902 J. F. Cooleyem. O rozvoj metody se ale zasloužil později Anton Formhals, který v rozmezí let 1934 a 1944 publikoval několik patentů týkajících se experimentálního přístroje využívající elektrický náboj pro tvorbu jemných vláken o malém průměru.

V následujících 50. až 80. letech 20. století zájem o elektrospining poklesl, přesto však vyšlo několik prací a byly provedeny experimentální práce. Například v roce 1952 Vonnegut a Neubauer popsali přístroj pro elektrostatické rozprašování, v roce 1966 Simons publikoval zařízení elektrostatického zvlákňování pro výrobu ultratenkých a velmi lehkých textilií. V roce 1971 popsal Baumgarten vliv podmínek rozpouštění a parametrů procesu na strukturu a vlastnosti vláken a byl schopen při měnících se podmínkách připravit vlákna s průměrem v rozsahu 500 nm až 1000 nm.

Na přelomu 70. a 80. let 20. století se začalo se zkoušením elektrospiningem připravených vláknitých materiálů v oblasti tkáňového inženýrství. V roce 1978 Annis a Bornat, následně pak v roce 1985 Fischer a Annis publikovali experimentální práce zabývající se využitím nanovláken jako cévních náhrad.

Na počátku 90. let 20. století byla technologie elektrostatického zvlákňování znovu objevena především díky experimentálním pracem Renekera a Chuna v oblasti polymerních roztoků a Lorronda a Manleyho v oblasti polymerních tavenin.

Řada odborných pracovišť vysokoškolských i jiných se zabývá výzkumem v oblasti elektrospiningu. Jedním z nich je Technická univerzita v Liberci (TUL), která v roce 2005 na světových výstavách oficiálně prezentovala novou technologii výroby nanovláken metodou elektrospiningu v průmyslovém měřítku-Technologie Nanospider™.

#### 3.3.1.1 Technologie Nanospider™

Technická univerzita v Liberci jako první na světě vyvinula technologii a sestavila zařízení, jež je schopno vyrábět netkané nanovláknenné textílie v průmyslovém měřítku. Technologie je nazvána Nanospider™ a na vývoji se podílel tým profesora Oldřicha Jirsáka z Katedry netkaných textilií. Výhradním partnerem

TUL pro další rozvoj technologie se stala liberecká firma Elmarco, která získala licenci na produkci a prodej technologie Nanospider<sup>TM</sup>.<sup>9</sup>

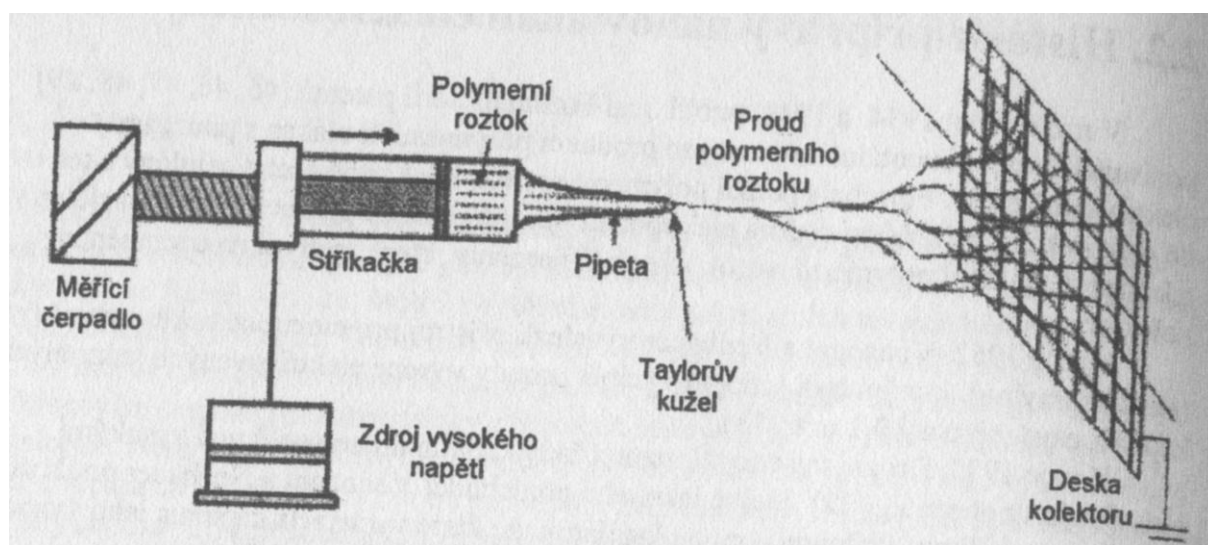
Vývojový tým TUL po mnoha pokusech a testování přišel na počátku roku 2003 s určitou představou výroby nanovláken v průmyslovém měřítku a ještě téhož roku si univerzita nechala technologii průmyslové výroby nanovláken patentovat. Protože sama univerzita neměla dostatečné finanční a technické zázemí pro další vývoj, uzavřela roku 2004 s firmou Elmarco smlouvu o spolupráci v rámci projektu vývoje technologie průmyslové výroby nanovláken. Na jejím základě bude soukromá společnost stroje vyrábět a bude mít výhradní práva k prodeji, přičemž vlastnictví patentů zůstává TUL. V tom samém roce představili TUL a Elmarco první prototyp stroje zkonstruovaného na technologii Nanospider. Roku 2005 prezentovali první nanovláknenné materiály s konkrétními možnostmi využití a následně představili první průmyslové linky na světových výstavách v Ženevě a Frankfurtu nad Mohanem. V roce 2006 nabídla firma Elmarco první zařízení na průmyslovou výrobu nanovláken k prodeji. Společnosti Elmarco a TUL se během těchto pár let podařilo sestavit nejen řadu laboratorních zařízení určených pro výzkum a vývoj elektrospiningu, ale především pilotní linky pracující v šíři 1 m a 1,6 m. V posledních dvou letech byly vyvinuty další varianty technologie Nanospider<sup>TM</sup>, které s úspěchem umožňují průmyslovou výrobu nanovláken na bázi nevodorozpustných polymerů, se současnou možností nanášet nanovláknena i na materiály se značně nevýhodnými elektrickými vlastnostmi pro proces elektrospiningu. Všechny tyto nové metody elektrospiningu jsou průběžně patentovány. Zároveň na univerzitě probíhají další výzkumy a to především zkoumání vlivů jednotlivých parametrů na kvalitu nanovláknenné vrstvy.<sup>9, 10</sup>

Princip technologie Nanospider<sup>TM</sup> spočívá ve zjištění, že Taylorův kužel je možné vytvořit i na tenké vrstvě polymerního roztoku, na základě čehož není pro formování vláken potřeba žádné trysky ani kapiláry. Místo zvlákňovací trysky je použit rotující válec částečně ponořený v roztoku polymeru. Vláknena jsou elektrickým polem formována z tenké vrstvy polymeru a následně umístěna na kolektor. Velkou výhodou metody je její podstatně vyšší produktivita než produktivita ostatních metod využívající princip elektrospiningu. Průměr vláken se pohybuje v rozsahu 100 nm až 300 nm a plošná hmotnost materiálu je 0,1 g/m<sup>2</sup> až 5 g/m<sup>2</sup>. Metoda byla zpočátku určena vzhledem k časté toxicitě rozpouštědel pro zpracování vodorozpustných systémů, nyní je používána i pro nevodorozpustné polymery.<sup>7</sup>

### 3.3.2 Princip a schematická sestava

Metoda je založena na formování roztoku nebo taveniny polymeru ve vlákna působením silného elektrostatického pole. Vzniklá vlákna jsou současně ukládána vlivem pole na podložku, která je umístěna na povrchu uzemněné protielektrody.

Typická schematická sestava se skládá ze zdroje vysokého napětí, kolektoru a z kapiláry opatřené na jednom konci pumpou a na druhém jehlou (**Obr. 1**). Pomocí pumpy je kapilárou zajištěn průtok roztoku nebo taveniny polymeru. Ze zdroje vysokého napětí vede jedna elektroda přímo do roztoku polymeru nebo může být přiložena na kapiláru (pokud je opatřena kovovou jehlou), druhá elektroda je připojena na kolektor. Kolektor sbírá a shromažďuje získaná vlákna.

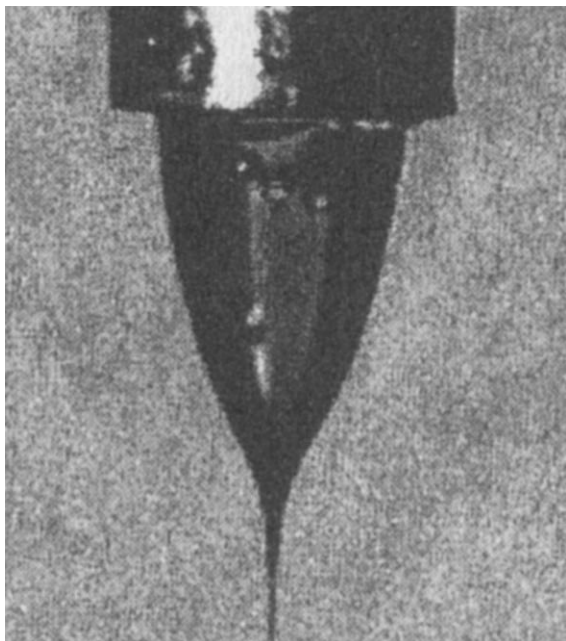


Obr. 1: Schéma sestavy a principu elektrostatického zvlákňování<sup>7</sup>

Zdroj vysokého napětí vnáší do roztoku polymeru náboj o určité polaritě. S rostoucím elektrickým polem sílí repulzní interakce mezi souhlasně nabitými částicemi roztoku a také rostou přitažlivé síly mezi roztokem a opačně nabitým kolektorem. To má za následek prodlužování kapky na špičce kapiláry. V momentě, kdy elektrostatické síly budou v rovnováze s povrchovým napětím kapaliny, změní se prodlužovaná kapka z tvaru kulatého menisku na kužel tzv. Taylorův kužel (**Obr. 2**). Při dalším růstu elektrického pole elektrostatické síly převýší povrchové napětí kapaliny a z vrcholu kužele je katapultován proud polymerního roztoku, který je urychlen směrem k uzemněnému kolektoru. Během cesty polymerního proudu ke kolektoru je odpařeno rozpouštědlo a na kolektor se ukládají polymerní vlákna. Za letu proudu atmosférou dochází k chaotickému ohýbání tzv. whipping instability,



čímž se prodlužuje doba přeletu, optická délka ke kolektoru, a napomáhá to k odpaření rozpouštědla, ke ztenčení a prodloužení vláken.<sup>7,8</sup>



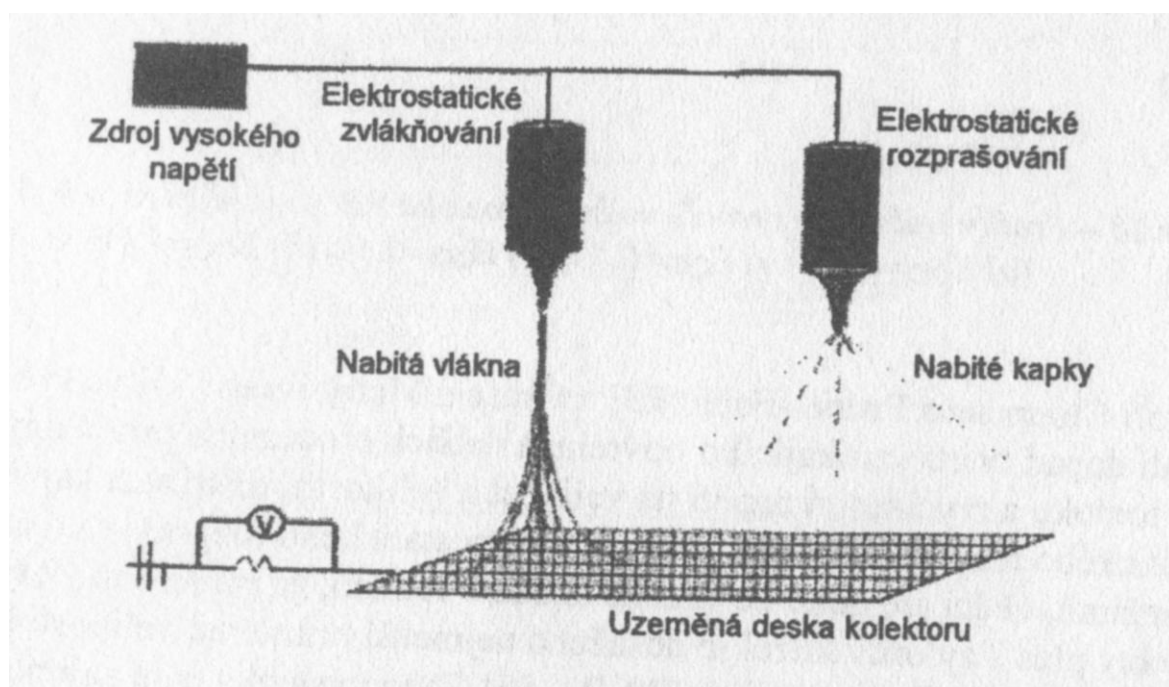
Obr. 2: Taylorův kužel<sup>7</sup>

### 3.3.2.1 Elektrosponing v porovnání s elektrosprayingem

Metoda elektrostatičkého zvlákňování (elektrosponing) a metoda elektrostatičkého rozprašování (elektrospraying) mají stejný princip (**Obr. 3**), ale odlišný výsledný produkt. V přítomnosti elektrického pole je hemisférický povrch kapky kapaliny zavěšené na konci kapiláry deformován do tvaru kužele a při překročení kritické hodnoty napětí je ze špičky kužele vypuzen proud kapaliny. Pokud se proud kapaliny rozbije do nabitých kapiček, hovoříme o elektrosprayingu, při kterém je z důvodu nízké viskozity kapaliny proud nestabilní a vlivem povrchového napětí je roztržštěn do kapek, čímž získáme aerosol složený ze submikronových kapek s úzkými distribucemi velikosti. Zatímco u elektrosponingu při použití vysoce viskózní kapaliny nedochází k rozbití proudu kapaliny, ale k přenosu směrem k uzemněnému kolektoru, na kterém se generují polymerní vlákna.

Hranicí pro tvorbu vláken, to znamená nerozbití proudu kapaliny na kapky, je hodnota viskozity, která se pohybuje od 1 poise do 20 poise.

Pro oba dva procesy elektrosponing a elektrospraying platí, že struktura a morfologie výsledného produktu, kterým jsou vlákna nebo částičky, je určena parametry příslušných procesů.<sup>7</sup>



Obr. 3: Princip elektrostatického zvlákňování a elektrostatického rozprašování<sup>7</sup>

### 3.3.3 Parametry elektrosponingu

Polymer má schopnost formovat se do vláken, označovanou jako zvlákňitelnost. Proces zvlákňování je ovlivněn celou řadou parametrů, které jsou rozděleny na procesní (vlastnosti procesu) a systémové (vlastnosti materiálu).

Jako systémové parametry jsou označeny vlastnosti zvlákňovaného materiálu, to znamená molekulová hmotnost a architektura polymeru, koncentrace, viskozita, hustota, povrchové napětí roztoku, teplota zvlákňování, rychlost odpařování rozpouštědla u roztoků a rychlost tuhnutí u tavenin, přídavek aditiv.

Procesní parametry mají vliv na tvorbu vláken procesem elektrostatického zvlákňování a patří mezi ně elektrická vodivost roztoku nebo taveniny, intenzita elektrického pole, vzdálenost kolektoru od zvlákňovací kapiláry, okolní parametry (teplota, vlhkost a rychlost vzduchu), pohyb kolektoru (pokud se pohybuje).

Hodnoty uvedených parametrů se liší u každého druhu polymeru a je tedy nutné pro každý materiál určit optimální podmínky procesu. Pokud se budeme pohybovat mimo optimální rozmezí, získáme vlákna o nevyhovujících vlastnostech.<sup>7,8</sup>

### **3.3.3.1 Vliv koncentrace a viskozity polymerního roztoku**

Koncentrace roztoku určuje velikost, tvar, porozitu, strukturní defekty vláken a ovlivňuje viskozitu a povrchové napětí roztoku, obě dvě zmíněné vlastnosti hrají roli v procesu elektrospinningu.

S rostoucí koncentrací roztoku a tedy i viskozitou roste průměr vláken a velikost mezivláknenných pórů, snižuje se množství korálkových defektů a dochází ke změně tvaru vláken od nepravidelně zvlněného s velkými změnami průměru podél jednotlivého vlákna, přes tvar kruhový s jednotnějším průměrem, až k tvaru plochému. Pokud je roztok příliš zředěný a viskozita je menší než 1 poise, budou se vlivem povrchového napětí namísto vláken tvořit kapky. Také u vysokých hodnot koncentrací a viskozit větších jak 20 poise nebudou tvořena vlákna a to proto, že vysoká hodnota viskozity ztěžuje tok roztoku kapilárou do špičky jehly a vysoce viskózní roztok má velmi kohezní povahu.<sup>7,8</sup>

### **3.3.3.2 Vliv molekulové hmotnosti polymerního roztoku**

Molekulová hmotnost polymeru má vliv na průměr, tvar, odchylky ve struktuře vláken a má významný účinek na další vlastnosti (reologické vlastnosti, elektrická vodivost, povrchové napětí roztoku) hrající roli v procesu zvlákňování a ovlivňující tedy výsledný vzhled vlákenné vrstvy.

S rostoucí molekulovou hmotností polymeru se zvyšuje vlákenný průměr a velikost mezivláknenných pórů, dochází ke změně tvaru vláken od kulatého k plochému, stabilizuje se vlákenná struktura a následkem toho se eliminuje výskyt korálkových defektů. U materiálů o nízké molekulové hmotnosti dochází vlivem Rayleighovy nestability k rozbití proudu tekutiny na kapky, následkem čehož nejsou formována vlákna. Naproti tomu u kapalin o vyšší molekulové hmotnosti vzdoruje prodlužovaný tok rozbití a vzniká vlákenná struktura.<sup>7</sup>

### **3.3.3.3 Vliv povrchového napětí polymerního roztoku**

Povrchové napětí roztoku ovlivňuje především korálkovou strukturu a je funkcí složení rozpouštědla. S klesajícím povrchovým napětím klesá výskyt korálkových defektů.<sup>7</sup>

### **3.3.3.4 Vliv konduktivity polymerního roztoku**

Konduktivita roztoku má vliv na vlákenný průměr a jeho jednotnost.

Roztok o vyšší konduktivitě má větší kapacitu nést náboj než roztok s nižší konduktivitou. To znamená, že polymerní proud pocházející z roztoku o vyšší konduktivitě bude v přítomnosti elektrického pole podroben větším tahovým silám než proud roztoku s nižší konduktivitou. Proto bude roztok o vyšší konduktivitě značně nestabilní ve smyslu bending instability, což povede k ovlivnění velikosti vláken.

S rostoucí konduktivitou roztoku klesá vlákenný průměr a distribuce velikosti vláken se stává širší.<sup>8</sup>

### **3.3.3.5 Vliv těkavosti rozpouštědla**

Těkavost rozpouštědla má významný vliv na tvar získaných vláken a hustotu pórů ve vláknech.

V průběhu cesty polymerního proudu ke kolektoru je rozpouštědlo odpařeno a na kolektor se ukládají polymerní vlákna. V případě nedostatečné evaporace rozpouštědla se ukládají na kolektor vlákna relativně mokrá, která jsou nárazem na kolektor zploštěna. Oproti tomu, při dostatečném odpaření rozpouštědla jsou vlákna před dopadem na kolektor suchá a získají kulatý tvar. Rychlost odpařování rozpouštědla je ovlivněna nejen samotnými vlastnostmi rozpouštědla ale také viskozitou roztoku, která roste s rostoucí molekulovou hmotností. Proto u roztoků o vyšší viskozitě nebo materiálů o vyšší molekulové hmotnosti klesá rychlost odpařování rozpouštědla, vznikají vlákna mokrá, následně deformovaná na výsledný plochý tvar.<sup>7</sup>

S rostoucí schopností rozpouštědla odpařit se roste hustota pórů ve vláknech, což s sebou přináší zvětšení povrchu.<sup>8</sup>

### **3.3.3.6 Vliv obsahu aditiv v polymerním roztoku na morfologii získaných vláken**

Aditiva přidaná do polymerního roztoku mohou mít vliv na korálkovou strukturu. Aditivum zvýší hustotu náboje na povrchu polymerního proudu při zvlákňování, následkem toho je zvýšen náboj přenášený proudem, což způsobí vyšší prodlužovací síly proudu v elektrickém poli, a proto vznikají menší korálky a jsou formovány vlákna o menších průměrech.

S přidavkem aditiva tedy mohou vznikat vlákna o menších průměrech a bez korálkových defektů.<sup>7</sup>

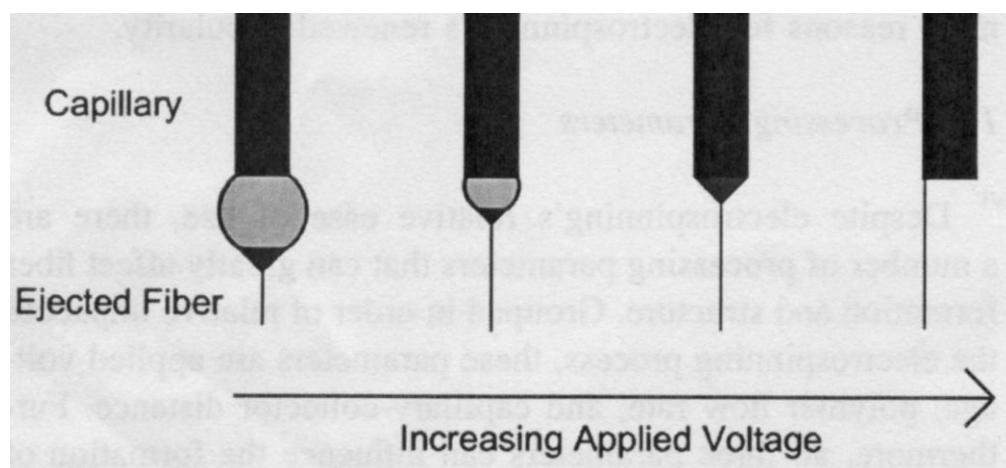
### 3.3.3.7 Vliv elektrického napětí

Hodnota použitého napětí se pohybuje mezi 10 kV až 50 kV v závislosti na materiálu. Elektrické napětí má vliv na morfologii vláken a na tvar vznikající kapičky.

Při relativně nízkých hodnotách napětí je kapička roztoku zavěšena na konci zvlákňovací jehly a polymerní proud vzniká z kužele, který se vytvořil na špičce zavěšené kapky, jejíž průměr je větší než průměr kapiláry. Takto získaná nanovlákna mají tvar válce a v jejich struktuře je možné najít pár korálkových defektů. Se zvyšujícím se elektrickým napětím se snižuje objem kapičky a ustupuje kužel, který je v další fázi formován na špičce kapiláry. Získaná vlákna mají ještě válcovitou strukturu, ale obsahují více korálkových defektů. S dalším nárůstem napětí je polymerní proud vyslaný zvnitřku kapiláry bez jakéhokoliv zřetelného kužele nebo kapičky. Takto vyprodukovaná vlákna jsou charakterizována vysokým počtem korálkových defektů.

Z výše uvedeného vyplývá, že se zvyšujícím se elektrickým napětím (**Obr. 4**) klesá objem zavěšené kapky, ustupuje kužel a roste množství korálkových defektů.

Kromě toho platí, že při vyšších hodnotách napětí je vypuzeno více kapaliny v polymerním proudu a následkem toho je větší průměr vláken.<sup>7,8</sup>



Obr. 4: Vliv hodnoty napětí na formaci Taylorova kužele<sup>8</sup>

#### **3.3.3.8 Vliv procesní vzdálenosti kapilára – kolektor**

Vzdálenost kapilára – kolektor ovlivňuje průměr a strukturu vláken.

S rostoucí vzdáleností mezi Taylorovým kuželem a kolektorem se snižuje průměrný průměr vláken.<sup>7</sup>

Při velmi krátké vzdálenosti kapilára – kolektor lze ve vlákenné vrstvě pozorovat strukturu s korálovými defekty, což je způsobeno nedostatečným vysušením polymerních vláken dříve, než dosáhnou kolektoru.<sup>8</sup>

#### **3.3.3.9 Vliv rychlosti polymerního toku kapilárou**

Rychlost polymerního toku kapilárou má vliv na průměr, porozitu a tvar vláken.

S rostoucí rychlostí toku roste průměr a porozita vláken. Při příliš vysokých hodnotách rychlosti nejsou vlákna schopna se během své cesty vzduchem kompletně vysušit, což ve struktuře vláken způsobí existenci korálových defektů a ovlivní tvar vláken na výsledný zploštělý, páskovitý oproti ideálnímu válcovému tvaru.<sup>8</sup>

#### **3.3.3.10 Vliv druhu kolektoru a jeho vlastností**

Druh kolektoru, který bude použit pro depozici vláken, je vybrán na základě zamýšlené aplikace textílie a má vliv na strukturu vlákenné vrstvy. Existují dva základní typy dle pohybu a konstrukce a jejich modifikace – kolektor ve formě stacionární desky nebo rotujícího vřetena. Stacionární kolektor generuje vlákna orientovaná náhodně, zatímco rotující kolektor poskytuje vlákna uspořádaná a na základě rychlosti otáčení je určen stupeň anisotropie. Kolektor jako deska formuje vlákna do podoby listu papíru a kolektor jako vřeteno tvoří vlákna do podoby válcovitého skeletu.

Vlastnosti kolektoru jako jsou konduktivita a porozita ovlivňují hustotu balení vláken na kolektor. Kolektor o vyšší konduktivitě je schopen rozptýlit zbytkový náboj na vláknech a tudíž snižuje hustotu balení (nižší koncentrace hmoty), zatímco nekonduktivní kolektor schopnost odpudit navzájem sebraná vlákna postrádá a zvyšuje tedy hustotu balení. Podobně je tomu u poréznějšího kolektoru, který snižuje hustotu balení, kdežto méně porézní kolektor ji zvyšuje.<sup>8</sup>

### 3.3.4 Typy elektrospiningu

Kromě parametrů procesu může významně ovlivnit výsledný produkt typ elektrospiningu. Elektrospining může být klasifikován podle výchozího stavu polymeru nebo podle technického provedení.

#### Elektrospining dle výchozího stavu polymeru

Polymer může být zvlákněn přímo z taveniny nebo rozpuštěn v příslušném rozpouštědle a zvlákněn z roztoku. Častěji jsou zvlákněny roztoky než taveniny a důvodů, proč tomu tak je, je několik. Při zvláknění taveniny je potřeba vakua a získaná vlákna nejsou tak jemná, protože to nedovoluje vyšší viskozita taveniny. Typické pro zvláknění z roztoku je širší rozmezí velikosti vláken, zatímco z taveniny jsou získána vlákna velikosti mikrometrů a větší. Elektrospining z roztoku může být proveden při pokojové teplotě, kdežto tavenina musí být udržována při teplotě zvýšené. Zvláknění z taveniny eliminuje jednak potřebu agresivního organického rozpouštědla a jednak problém nepostačující evaporace rozpouštědla mezi špičkou kapiláry a kolektorem (tavenina oproti roztoku musí být schopna jen zchladnout při cestě atmosférou).<sup>7,8</sup>

#### Elektrospining dle uspořádání

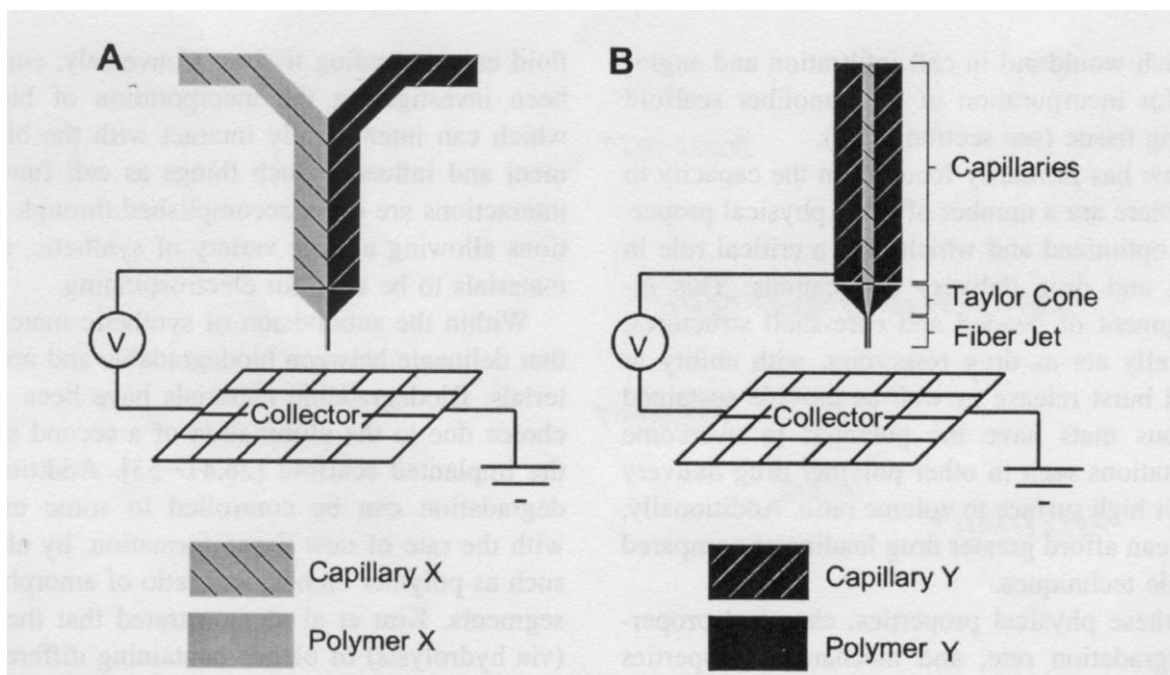
Existují tři základní typy dle počtu kapilár a jejich vzájemné polohy: jednoduchá konfigurace trysky, konfigurace jedna vedle druhé nebo koaxiální konfigurace.

Jednoduchá konfigurace trysky je nejjednodušší a nejběžnější metodou, kdy roztok polymeru nebo směs polymerů (přičemž všechny polymery musí být rozpustné v příslušném rozpouštědle) protéká jednou jedinou kapilárou.

Při uspořádání jedna vedle druhé (**Obr. 5A**) protékají dva oddělené roztoky polymerů dvěma různými kapilárami, které jsou vedle sebe. Při podobné konduktivitě obou roztoků bude vytvořen Taylorův kužel skládající se z obou polymerů a budou produkována vlákna obsahující oba polymery, přičemž relativní množství každého z polymerů se může ve vlákně měnit tak, jak fluktuje polymerní proud na povrchu Taylorova kužele. Touto technikou lze zvláknovat směsi polymerů, které nejsou rozpustné ve společném rozpouštědle. Musí být splněna podmínka podobné konduktivity, jinak vznikne příslušný počet odlišných Taylorových kuželů.

Koaxiální uspořádání je relativně nové a je o něj velký zájem především v oblasti možné aplikace léčiv. Při tomto seskupení (**Obr. 5B**) protékají dva oddělené

roztoky polymerů dvěma různými kapilárami, kdy jedna menší je uvnitř druhé větší kapiláry. Tato metoda umožňuje enkapsulaci vláken polymeru z menší kapiláry do vláken polymeru nacházejícího se ve větší kapiláře.<sup>8</sup>



Obr. 5: Ukázka elektrospiningu dle uspořádání<sup>8</sup>

### 3.3.5 Materiály

Materiálem pro elektrostatické zvlákňování jsou polymerní kapaliny, které jsou viskóznější a jejich viskoelastické síly stabilizují proud kapaliny. Zatímco u kapalin o nízké molekulové hmotnosti vede nestabilita proudu k následné spršce malých nabitých kapiček a mluvíme tedy o elektrostatickém rozprašování.

Elektrostatické zvlákňování je možné použít u řady polymerů přírodních i syntetických. Elektrospining je vhodný pro zpracování polymerů jako polyolefiny, polyamidy, polyesteru ale i pro biopolymery jako proteiny, DNA, polysacharidy. Dosud bylo touto technikou zpracováno zhruba 50 druhů polymerů. Surovinu pro elektrospining se mohou nacházet ve formě polymerního roztoku nebo polymerní taveniny.<sup>7</sup>

### 3.3.6 Vlastnosti vláken

Hodnocenými vlastnostmi získaného materiálu jsou především průměr vláken a jeho distribuce velikosti, tvar vláken, plošná hmotnost, měrný povrch vláknenné vrstvy, velikost mezivláknenných pórů a jejich velikostní distribuce, množství pórů,



s póry spojené prodyšnost, filtrační a separační vlastnosti, struktura vrstvy (hustota korálových defektů, počet a velikost strukturních defektů vrstvy), přítomnost náboje, kvalitativní složení, modifikace povrchu vláken, rychlost degradace.

Vlastnosti vláken nabývají různých hodnot v závislosti na parametrech procesu, které jsou voleny na základě předpokládaného použití materiálu.<sup>7</sup>

Elektrostatickým zvlákňováním se získají velmi jemná vlákna s průměrem vláken řádově v nanometrech tzv. nanovlákna (vlákna s průměrem do 1000 nm) . V současné době se připravují nanovlákna s průměrem 100 nm až 500 nm. Udává se vždy průměr vláken a distribuce průměru. Vlákna svou velikostí napodobují fibrilární proteiny přírodní extracelulární matrix jako je kolagen, což je výhodné pro možné využití v tkáňovém inženýrství. Tvar vláken je různorodý, od tvaru nepravidelného po válcovitý, plochý, páskovitý.<sup>7</sup> Vznikající vlákna jsou nerovnoměrná vzhledem k průměru, tvaru průřezu a stupni vydloužení a z toho vyplývá velmi nízká mechanická soudržnost výrobků, které se proto nejčastěji vytvářejí a používají vrstvené s nosnými a krycími materiály.<sup>5</sup>

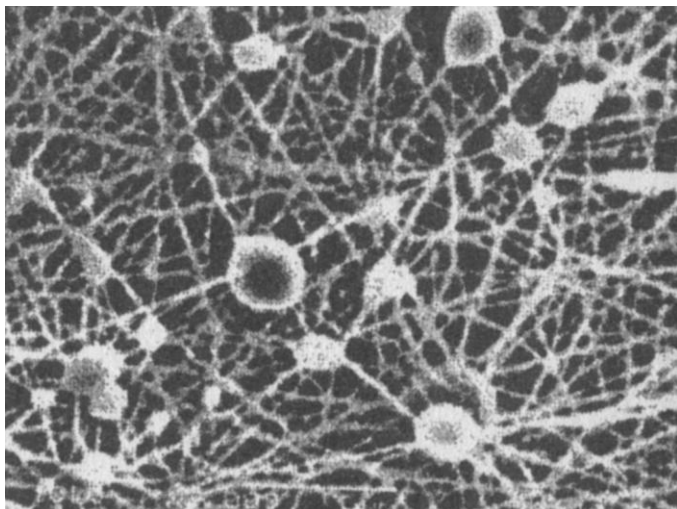
Vlákenné vrstvy nabývají různých hodnot plošné hmotnosti, nejčastěji 5 g/cm<sup>2</sup> až 200 g/cm<sup>2</sup> . Rozložení materiálu v ploše je vysoce rovnoměrné na základě přítomnosti elektrického náboje na vláknech ve vznikající vrstvě, kdy v elektrickém poli pohybující se vlákna nesoucí stejný náboj jsou převážně směřována do míst s nižší koncentrací hmoty.<sup>5</sup>

Vlákna jsou schopna rozptýlit nebo udržet elektrostatický náboj v závislosti na vlastnostech polymeru a okolních podmínkách. Náboj může být vázán na materiál permanentně, dlouhodobě (po dobu půl roku až několik let) nebo krátkodobě. Pokud je náboj nežádoucí, může být odstraněn např.: neutralizován během kontaktu s kolektorem. Vrstvy nesoucí náboj se nazývají elektrety a zlepšují filtrační vlastnosti materiálu. Výrazně zkreslit mohou skutečné filtrační vlastnosti materiálu vrstvy obsahující náboj krátkodobý.

Nanovlákna se vyznačují velkým měrným povrchem vláken (což je poměr povrchu vláken k jejich objemu), velkou pórovitostí vlákenné vrstvy, malým rozměrem pórů, nízkou základní hmotností.

Vlákna mohou být uspořádána pravidelně nebo orientována náhodně. Ve vlákenné struktuře se mohou vyskytovat defekty jako rozvětvená vlákna, ploché pásy, zakřivené pásy, vlákna rozeklaná podélně z větších vláken a tzv. korálové

defekty, kdy vláknenná struktura není zcela stabilní a na vláknech jsou pozorovatelná rozšířená místa tvaru kulovitého nebo vřetenovitého (**Obr. 6**).



**Obr. 6: Struktura vlákna s korálovými defekty<sup>7</sup>**

Vlákna mohou být monokomponentní, vytvořená z jednoho druhu polymeru, nebo polykomponentní neboli kompozitní, vytvořená ze směsi polymerů. Kromě toho mohou vlákna obsahovat malé nerozpustné částičky (léky, bakteriální činitele, živé buňky), které se přidávají do polymerního roztoku.<sup>7</sup> Struktura kompozitních vláken je různá podle technického uspořádání elektrospiningu. Při jednoduché konfiguraci trysky vlákno obsahuje v celém svém objemu směs obou polymerů. Při uspořádání jedna vedle druhé je vlákno podélně rozděleno na část obsahující jeden polymer a část obsahující druhý polymer. Při koaxiálním uspořádání jsou vlákna jednoho polymeru enkapsulována do vláken druhého polymeru a vzniká tzv. core – shell struktura.<sup>8</sup>

Povrch vláken může být modifikován připojením bioaktivních molekul např.: krátkých sekvencí peptidů, želatiny, proteoglykanů.<sup>8</sup>

### **3.3.7 Použití nanovláknenných materiálů připravených elektrospiningem<sup>7,8</sup>**

Na základě svých významných vlastností jsou nanovlákna připravená metodou elektrospiningu vhodnými kandidáty pro rozsáhlou oblast možných aplikací jak v oblasti medicíny tak v řadě ostatních oborů. Dnes je většina zamýšlených aplikací ve fázi výzkumu a testování a mnoho dalších možností využití teprve čeká na své objevení. Předpokládá se, že se jedná o materiál budoucnosti, u kterého budou v nejbližší době vysvětleny a vyřešeny zbývající nejasnosti a jeho používání bude bez jakýchkoliv hranic. Velký přínos se očekává především v oblasti medicíny.

Mezi možné aplikace patří využití jako separační membrány, vysoce účinné filtry, výztuhy pro kompozitní materiály, biomedicínská aplikace, nanoelektrická zařízení, solární plachty, vodíkové nádrže pro palivové články, nosiče chemických katalyzátorů.

Vláknenné materiály se používají jako filtrační a separační média poskytující vysokou účinnost filtrace a nízký odpor vzduchu. Tyto schopnosti jsou úzce spjaté s jemností vláken, velkým měrným povrchem, malou velikostí pórů a možnou existencí elektrického náboje ve vláknenné vrstvě. Nanovláknenný materiál je schopen odfiltrovat bakterie, viry, ale i cigaretový kouř. Největší výhodou nanovláken je rychlý nárůst filtrační efektivity s méně významným poklesem filtrační propustnosti a s méně významným vzrůstem tlakového spádu. Tohoto poznatku se dnes využívá především ke zvýšení životnosti a efektivity filtrů jako jsou vložky do lapačů prachu nebo vzduchové filtry pro kabiny vozidel. Schopnost vlákna zachytit cosi do své struktury naznačuje možnost použití nanovláknenné pavučiny jednak jako přepravce pro nejrůznější látky jako léky, antimikrobiální chemikálie pro čisticí utěrky a utěrky pro osobní hygienu, jednak jako ochrannou bariéru v oděvní aplikaci nebo v lékařských a farmaceutických produktech jako obvazoviny.

Pojem biomedicínská aplikace zahrnuje tkáňové inženýrství, podložky pro růst tkání, lékařskou protetiku, především cévní náhrady. Struktura nanovláken připomíná strukturu lidské tkáně, protože získaná vlákna svou velikostí a porozitou napodobují fibrilární proteiny přírodní extracelulární matrix jako je kolagen a podobají se kosti, zubovině, chrupavce, kůži. Struktura a morfologie nanovláken hraje podstatnou roli v buněčné proliferaci a adhezi a umožňuje interakci s buňkami, což se zdá být ideální pro připojení k buňkám. Navíc porozita vláknenné vrstvy pomáhá při transportu živin.

Nanovláknna mohou být použita jako cévní, kostní náhrady nebo na základě výzkumu Purdue University mohou tvořit tenký pórovitý film na tvrdém protetickém zařízení, jako jsou ortopedické (umělé kyčle) a nervové implantáty (elektrické sondy), u nichž se předpokládá, že vláknenná struktura bude pracovat jako mezifáze mezi hostitelskými buňkami a protetickým zařízením, čímž se předejde selhání zařízení po implantaci, a že bude podporovat hojivé procesy. Podstatou využití nanobiotechnologie v oblasti tělních náhrad je náhrada vyrostlá v laboratoři, při níž jsou na povrch trojrozměrné kolagenové konstrukce připravené elektrostatickým zvlákněním nasazeny příslušné buňky. Touto technologií, která byla vyvinuta výzkumníky Virginia Commonwealth University, mohou být připraveny a snad

v nejbližší době komerčně použity náhrady cév, kůže, kostí, nervu, svalu, rohovky, chrupavky, šlachy, atd.

Vlákná mohou sloužit jako podložky pro růst tkání, to znamená stát se ideální matricí, která bude napodobovat strukturu a funkci přirozené extracelulární matrice a na kterou se mohou připojit a následně růst lidské buňky.

Nanovláknenná membrána jako antiadhezní membrána sloužící pro ochranu tělesné tkáně od slepení při hojení je zkoušena vědci na Stonybrook Technology and Applied Research.

Uplatnění nanovláken v systému cíleného doručení léčiv může v budoucnu přinést pacientům fyziologicky přijatelnější způsob podání léčiva. Podstatou je vláknenná konstrukce z biokompatibilních a biodegradabilních polymerů, která slouží jako nosné médium pro léčivo. Nanovláknenná konstrukce může být navržena tak, aby poskytla rychlé, okamžité, zpožděné nebo jinak upravené rozpuštění léčiva. Systémy cíleného doručení léků tvoří ochranné opouzdření léčiva během transportu tělem na určité místo.

Nanovlákná jako obvazoviny mohou být použita pro ošetření zranění nebo popálenin kůže. Předpokládá se, že by vlákna byla stříkána přímo na zraněné místo, kde vytvoří vláknitý obvaz, který chrání, zároveň hojí a eliminuje formaci jizvové tkáně. Kromě toho se provádí výzkum použití nanovláken jako pleťové masky pro léčebné hojení a čištění pleti.

Jako další uplatnění nanovláken v medicíně ale také v ostatních oborech mohou být ochranné roušky a respirátory nebo ochranné oděvy z nanovláknenného materiálu. Výhodou takových materiálů by měla být lehkost, pohodlnost, prodyšnost pro vodu a vodní páru, nerozpustnost v rozpouštědlech a vysoká reaktivnost pro mikroorganismy, nervové plyny a další smrtelné chemické látky.

## **3.4 Polymery**

### **3.4.1 Polyvinylalkohol**

Polyvinylalkohol (PVA) je syntetický, lineární, polyvinylový homopolymer, jehož syntéza na rozdíl od níže dvou jmenovaných polymerů je založena na bázi neobnovitelných zdrojů (chemická syntéza na bázi fosilních zdrojů). Je biodegradovatelný a označován jako plast se zkrácenou životností.<sup>11</sup>

Polymer se nezískává, na rozdíl od ostatních vinylových polymerů, z monomeru, ale vyrábí se hydrolýzou polyvinylacetátu (PVAc), a proto PVA vždy obsahuje určité množství acetátových skupin, které ovlivňují vlastnosti výsledného polymeru.<sup>12</sup> Průmyslová výroba PVA spočívá v radikálové polymerizaci vinylacetátu v methanolu sloužícím jako rozpouštědlo a následné alkalické alkoholýze PVAc. V závislosti na stupni hydrolýzy jsou získány různé druhy PVA, běžně dostupné se stupněm hydrolýzy v rozmezí 70 % až 99 %. Stupeň hydrolýzy je závislý především na době zdržení PVAc v reaktoru, na koncentraci katalyzátoru a teplotě.<sup>13</sup>

PVA je bílý prášek mající krystalický vzhled. Odolnost vůči rozpouštědlům je dána obsahem polyvinylacetátových skupin, střední molekulovou hmotností a teplotou. Polymer není rozpustný v olejích a nepolárních rozpouštědlech ani při vyšších teplotách. Při obsahu acetátových skupin do 35 % je PVA rozpustný ve vodě, zvýšením obsahu na 70 % až 85% se rozpustnost ve vodě ztrácí.<sup>12,14</sup> Co se týká jeho chování v ostatních rozpouštědlech, tak v jednosytných alkoholech bobtná a ve vícesytných se rozpouští, je odolný vůči organickým kyselinám a ve vodných roztocích anorganických kyselin při teplotě nad 160 °C vzniká viskózní až nerozpustná hmota. Lze s ním pracovat v rozmezí teplot -50 °C až 130 °C, je málo termoplastický a nad 200 °C nastává rozklad.<sup>12,15</sup>

Polymer může být použit ve formě vodného roztoku, fólií, filmů a vláken a využívá se v potravinářství na základě jeho zdravotní nezávadnosti (náhražka pektinu při výrobě ovocného želé), chemickém průmyslu (zahušťovadlo pro nátěrové hmoty, ochranný koloid pro suspenzní polymerace, výroba lepidel a impregnačních hmot odolných vůči olejům, benzínu), v medicíně a farmacii (chirurgické nitě, viskozifikant, emulgátor, lubrikant v oftalmologii, antiadhezní látka proti srůstům, nosič pro náplasti a příprava obvazů) s danými obory související aplikace v textilním průmyslu (výroba textilních vláken, obalových materiálů, těsnění, sítě, filtry).<sup>12,16</sup> Nové potenciální uplatnění nachází PVA zesíťovaný např: dusičnanem sodným, kyselinou boritou, kyselinou fosforečnou, glutaraldehydem nebo jiným způsobem modifikovaný polyvinylalkohol v oblasti imobilizace buněk, doručování léčiv, tkáňového inženýrství, membrán pro separační procesy.<sup>17,18,19,20,21</sup> Dalším trendem je výzkum a vývoj nanovláknenných membrán z PVA se širokým spektrem uplatnění především v oblasti hygieny a zdravotnictví, ochraně osob při práci a v neposlední řadě také v průmyslových oborech hlavně stavebnictví.<sup>10</sup>

Polyvinylalkohol je jedním se syntetických polymerů, který je sice pomalu, ale biologicky odbouratelný. Mikroorganismy, jež jsou schopny degradovat PVA, nejsou v přírodě všudypřítomné a v prostředích, jako je půda, běžné, proto se výzkum zajímá o přípravu PVA fólií, které by na svém povrchu nesly vitální PVA degradující bakterie, takže by po jejich vstupu do prostředí nastala rychlejší biodegradace. Mezi tyto mikroorganismy patří rody bakterií *Acinetobacter*, *Pseudomonas* a *Flavobacterium*. Za anaerobních podmínek je proces zvláště pomalý, proto je snahou tento proces urychlit. Jednou z možností jak získat biologicky lépe rozložitelný polymer je zejména chemická modifikace PVA nebo modifikace se snadno rozložitelnými biopolymery jako je škrob, celulóza, xanthan, gellan, bílkoviny, ovšem někdy na úkor snížení mechanických vlastností výsledných produktů. Materiály tohoto typu jsou ve fázi vývoje a zkoušení a očekává se u nich velký přínos v oblasti polymerů, které jsou snadno degradovatelné po skončení své životnosti a které by mohly částečně nahradit polymery přirozenou biologickou cestou nerozložitelné, a přinést tak alespoň určité řešení v likvidaci odpadů z plastů.<sup>22</sup>

### 3.4.2 Chitosan

Chitosan je biodegradabilní, biokompatibilní, netoxický, kationaktivní, lineární polysacharid odvozený od chitinu a obsahující jednotky N-acetyl-D-glukosaminu a D -glukosaminu spojené vazbou  $\beta$  1, 4.<sup>23</sup>

Získává se z chitinu alkalickou hydrolýzou nebo enzymaticky působením N-deacetylasy. Průmyslově se vyrábí alkalickou deacetylací chitinu, to znamená zpracováním ve 40% až 60% roztoku hydroxidu sodného při teplotě 90 °C až 160 °C po dobu několika hodin. Stupeň deacetylace se udává v %, pohybuje se v rozmezí od 60 % do 100 % a závisí na teplotě a koncentraci hydroxidu sodného.<sup>24</sup> Tato metoda představuje poměrně složitý a drsný technologický postup, při kterém je produkováno vysoké množství odpadu s vysokými nároky na likvidaci a silným zatížením odpadních vod. Do budoucna by mohla být elegantnější alternativa získávání chitinu/chitosanu zpracováním mycelárního odpadu z výroby kyseliny citrónové fermentační cestou, protože je známo, že chitin tvoří podstatnou součást hyf houby *Aspergillus niger*, která produkuje kyselinu citrónovou jako metabolit vyráběný pro potravinářské účely technologií vysoce precizní, zaručující stabilní kvalitu a vysokou čistotu mycelia.<sup>25</sup>

Chitin je druhý nejvíce rozšířený zdroj obnovující se přírodní suroviny a vyskytuje se ve schránkách raků, krabů, garnátů a ostatních vodních živočichů chráněných pevným obalem a v buněčných stěnách hub.<sup>23</sup> Chitosan můžeme v přírodě nalézt jen u několika druhů hub rodu *Aspergillus* a *Mucor* a to pouze v malém množství. Má kationtovou povahu s nízkou disociační konstantou a vzhledem ke svému kladnému náboji se váže na biologické a jiné negativně nabitě povrchy. Hustota náboje závisí na pH a na % deacetylaci (vysoká hustota náboje pro pH pod 6,5). Je biodegradabilní (jsou k dispozici bakteriální enzymy chitosanasy typu hydrolasy) a povrchově aktivní díky jen částečné deacetylaci. Molekulová hmotnost se pohybuje kolem  $10^5$  až  $10^6$ . V porovnání s chitinem je chemicky i biochemicky reaktivnější a stejně jako chitin nerozpustný ve vodě.<sup>26</sup> Je snadno chemicky modifikovatelný jak na amino tak na hydroxyskupině. Primární hydroxyskupina je substituována spojovacími články, na které se váže léčivo nebo skupina zodpovědná za cílení léčiva nebo zvýšení rozpustnosti ve vodě. Sekundární hydroxyskupina je modifikována za účelem zvýšení rozpustnosti ve vodě. Aminoskupina podléhá kvarternizaci, vlivem čehož se zvyšuje rozpustnost chitosanu ve vodě, a vytváří komplexy s ionty kovů.<sup>24</sup>

Chitosan může být formován do vláken, pro jejichž výrobu se používá zvláknění z roztoku obsahujícího 5 % chitosanu a 2 % kyseliny octové. Nevýhodou chitosanových vláken je malá pevnost za mokra a pro odstranění této vlastnosti je možné použít zesíťení (epichlorhydrinem) nebo připravit směsná vlákna. Ke zvláknění se používá jednak nemodifikovaný a jednak modifikovaný chitosan např.: N-Carboxybutyl Chitosan je rozpustný ve vodě a používá se pro rekonstrukci tkání a výrobu obvazů nebo ChitoQuat (Hydroxypropyl Trimethylammonium Chitosan Chlorid) mající biocidní aktivitu a používaný jako směsné vlákno s polyakrylnitrilem.<sup>26</sup>

Použití chitosanu se rozšiřuje do mnoha odvětví jako medicína a farmacie, potravinářství (konzervace potravin), kosmetika, zemědělství (urychlovač růstu rostlin a podpora obranyschopnosti vůči houbovým infekcím), vodní hospodářství (čištění odpadních vod) a s danými obory související aplikace v textilním průmyslu, přičemž se využívá již zmíněných biodegradabilních a biokompatibilních vlastností a také vlastností jako antimikrobní, fungicidní, hojivé účinky s vysokou absorptivitou, kompatibilita s krví a obecně hemostatické a trombogenní vlastnosti (některé jeho deriváty jako N-hexanoyl chitosan mají antitrombogenní vlastnosti), separační vlastnosti, protinádorová a antioxidační aktivita.<sup>24,26,27,28</sup> Chitosan se používá jako

potravní doplněk pro snížení hladiny cholesterolu a redukci hmotnosti, avšak jemu často přičítaný přílišný redukční účinek nebyl vědecky prokázán. V oblasti medicíny a farmacie má využití jako vstřebatelný chirurgický šicí materiál, hemostatický materiál (Celox®)<sup>29</sup>, materiál pro tkáňové inženýrství, vektor pro genové inženýrství, nosič léčiv, biodhezivní materiál.<sup>23</sup>

### 3.4.3 Kyselina polymléčná

Polymléčná kyselina je syntetický, termoplastický, netoxický, semikrystalický, alifatický polyester odvozený z obnovitelných zdrojů jako je kukuřičný škrob nebo cukrová řepa. Významnou předností je jeho biodegradabilita a biokompatibilita. Vzhledem k chirální struktuře kyseliny existuje ve dvou základních stereoizomerech (L) a (D).<sup>30</sup>

Syntéza polymeru zahrnuje výrobu a polymerizaci kyseliny mléčné. Kyselina mléčná je získávána buď z produktů petrochemického průmyslu nebo fermentací glukózy, jejímž zdrojem je škrob zemědělských plodin. Bakteriální fermentace využívající druh *Lactobacillus* je dnes ve srovnání s petrochemickou cestou postupem populárnějším jednak pro svou ekonomickou a ekologickou stránku a jednak pro výsledný produkt, kdy petrochemickým postupem vzniká racemická směs kyseliny, kdežto při výrobě z biomasy je získán výhradně (L)izomer (>99,5 %). Polymerizace kyseliny mléčné může probíhat dvěma způsoby: přímou kondenzací, kdy vznikne řetězec o nízké molekulové hmotnosti, nebo častěji používaným postupem přes cyklický meziprodukt, kdy kyselina mléčná poskytne oligomer, který je následně katalyticky dimerizován na cyklický produkt vhodný k polymerizaci otevřením cyklu. V konečném polymeru je možné ovlivňovat poměr (D) a (L) formy zejména prostřednictvím zvolené teploty, typem katalyzátoru a koncentrace.<sup>30</sup>

Izomery (L) a (D) ovlivňují jak stupeň krystalinity tak i bod tání, ale také další významné vlastnosti. Kyselina poly-(L)mléčná má stupeň krystalinity kolem 37 %, v přítomnosti (D)formy o relativním obsahu >20 % se materiál stává amorfním a při obsahu <2 % je materiál vysoce krystalický.<sup>30</sup> Bod tání PLLA je 173 °C až 178 °C a v přítomnosti (D) formy klesá bod tání až na 130 °C. Teplota skelného přechodu je 50 °C až 80 °C. Průměrná molekulová hmotnost je kolem 300 000.<sup>26</sup> Ve vodném prostředí podléhá hydrolýze, esterové vazby se štěpí a uvolňuje se netoxická kyselina mléčná, která se metabolizuje až na oxid uhličitý a vodu cestou cyklu kyseliny citronové. Rychlost biodegradace a případného uvolňování léčiva



z polymeru lze dále ovlivnit změnami fyzikálně-chemických vlastností polymerů, např.: krystalinitou, hydrofobními vlastnostmi, stereochemií monomeru, mírou kopolymerizace nebo molekulovou hmotností.<sup>31</sup>

PLA může být formována do vláken nebo do filmu samostatně nebo jako kopolymer nejčastěji s polyglykolovou kyselinou např.: Dexon®, Vicryl™, Polylactin 910™. Pro výrobu vláken se nejčastěji využívá poly-(L)mléčná kyselina a je možné použít zvlákňování z taveniny nebo z roztoku (směs toluenu a chloroformu). Vlákná jsou krystalická, biologická odolnost závisí na mechanických vlastnostech, navlhavost činí 0,6 %, měrná hmotnost 1250 kg/m<sup>3</sup>, odolná vůči UV záření, hydrolyzují při relativní vlhkosti 98 % a teplotě nad 60 °C.<sup>26</sup>

Polymer je používán jako obalový materiál, konkuruje konvenčním plastům polyetylenu a polypropylenu a nalézá uplatnění především ve formě obalových materiálů pro potraviny - kelímky, obalové průhledné fólie, misky, nádobí, lahve, které v blízké době začnou nahrazovat těžko odbouratelné PET lahve. Má potenciální využití v oblasti spotřebního zboží jako oděvy a galanterie, čalounictví a nábytek, hygienické produkty jako pleny, vložky, ubrousky, výrobky pro zemědělství jako pytle na kompostování, květináče. Ještě zajímavější uplatnění na základě její biokompatibility se naskytá PLA v oblasti medicíny a farmacie, kde se používá jako spojovací, podpurný, výplňový biodegradabilní materiál ve formě stehů, stentů, které lidské tělo po čase resorbuje, aniž by pro něj tento proces představoval nadměrný stres. Do budoucnosti se počítá s PLA jako materiálem pro tkáňové inženýrství a výrobu implantátů nebo nosičů účinných látek, které se zabudovávají do lidského organismu. Kostní destičky a/nebo šrouby z PLA se v těle postupně rozkládají, v souladu s probíhajícím procesem uzdravování např. fraktury kostí, a není je tedy nutné vyjmout při následné operaci, která by zatěžovala organismus pacienta. Dobu resorpce je možné pevně stanovit. Těla implantátů nebo nosičů, vyrobených z PLA s deponovanými účinnými látkami, mohou tyto látky vyloučit na určeném místě v přesně definovaném časovém okamžiku.<sup>26,30,31</sup>

## 3.5 TAHOVÉ ZKOUŠKY

### 3.5.1 Česká technická norma ČSN EN ISO 13934<sup>32</sup>

Česká technická norma ČSN EN ISO 13934 se skládá ze dvou částí pod názvem: Textílie - Tahové vlastnosti plošných textílií: část 1-Zjišťování maximální síly a tažnosti při maximální síle pomocí metody Strip (použito v experimentální části 4.6 *Tahové zkoušky*) a část 2-Zjišťování maximální síly pomocí metody Grab. Norma byla připravena pro zjišťování tahových vlastností textílií např.: pevnost v tahu, pevnost švu, pevnost v natržení, posuvnosti ve švu.

Část 1 EN ISO 13934 stanovuje podstatu zkoušky a vlastní postup pro zjišťování maximální síly a tažnosti při maximální síle pomocí metody Strip, uvádí další normy související se zkoušením, definuje pojmy pro účely zkoušky, stanovuje odběr vzorků a přípravu zkušebních vzorků, určuje požadavky na zkušební přístroj a na ovzduší pro klimatizaci a zkoušení, stanovuje postup pro výpočet a vyjádření výsledků a určuje náležitosti protokolu o zkoušce.

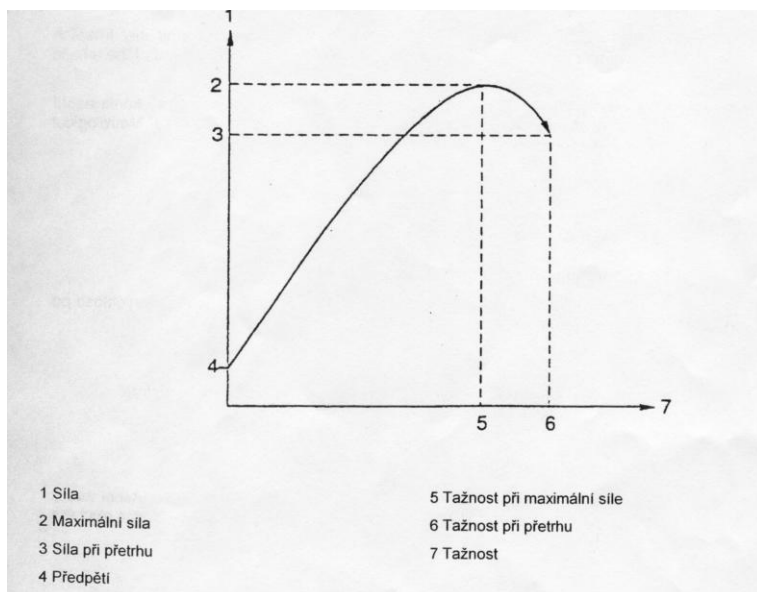
Zkušební vzorek textílie o stanovených rozměrech je napínán při konstantní rychlosti do přetržení. Zaznamenaná se maximální síla a tažnost při maximální síle a na základě požadavku síla při přerthu a tažnost při přerthu. Pro zkoušku je použit přístroj s konstantním přírůstkem prodloužení (přístroj CRE) splňující základní požadavky uvedené v normě jako jsou požadavky na přesnost, frekvenci sběru dat, konstantní rychlost prodloužení, upínací délku, čelisti. Vzorky jsou odebrány buď podle postupu uvedeného v materiálové specifikaci nebo na základě dohody zainteresovaných stran nebo dle postupu uvedeného v příloze normy. Vzorky nesmějí obsahovat sklady, pomačkaná místa, okraje a plochy, které nejsou reprezentativní. Z každého materiálu jsou vystřiženy dvě sady zkušebních vzorků (jedna ve směru výroby, druhá kolmo na směr výroby), v každé sadě minimálně po pěti vzorkách, o preferované šířce vzorku  $50 \text{ mm} \pm 0,5 \text{ mm}$  (možnost změny na základě dohody zainteresovaných stran), popřípadě s následnou úpravou jako odstranění nití, ponoření do vody při zkoušce za mokra atd. Před provedením zkoušky je třeba dle tabulky uvedené v normě nastavit parametry jako upínací délka, rychlost posuvu, upnutí bez nebo s předpětím. Při vlastním provedení zkoušky je vzorek centrálně upnut tak, aby jeho podélná střední osa procházela středem

předních hran čelistí. Při zkoušce se zaznamená maximální síla, v případě požadavku síla při přetrhu, prodloužení nebo tažnost při maximální síle, v případě požadavku tažnost při přetrhu. Výsledky zkoušek, při kterých se vzorek asymetricky vysune, a za určitých podmínek i výsledky zkoušek, při kterých se vzorek přetrhne, se neberou v úvahu. Výsledkem zkoušky je aritmetický průměr hodnot maximální síly, popřípadě i síly při přetrhu, aritmetický průměr hodnot tažnosti při maximální síle, popřípadě i tažnosti při přetrhu.

Pro účely normy platí následující definice:

- Zkušební přístroj s konstantním přírůstkem prodloužení (CRE) je trhací přístroj vybavený dvojicí svorek, z nichž jedna je pevná a druhá se pohybuje konstantní rychlostí po celou dobu zkoušky, přitom ve zkušebním systému nedochází k žádnému ohybu.
- Zkouška Strip je tahová zkouška, při které je celá šířka zkušebního vzorku upnuta v čelistech zkušebního přístroje.
- Upínací délka je vzdálenost mezi dvěma skutečnými místy upnutí měřená na zkušebním přístroji.
- Výchozí délka je délka zkušebního vzorku při stanoveném předpětí mezi dvěma skutečnými body upnutí na začátku určité zkoušky.
- Předpětí je síla působící na zkušební vzorek na začátku určité zkoušky.
- Prodloužení je přírůstek délky zkušebního vzorku vyvolaný silou. Vyjadřuje se v jednotkách délky.
- Tažnost je poměr prodloužení zkušebního vzorku k jeho výchozí délce. Vyjadřuje se v procentech.
- Tažnost při maximální síle je tažnost zkušebního vzorku vyvolaná maximální silou.
- Tažnost při přetržení je tažnost zkušebního vzorku, která odpovídá síle při přetržení.
- Síla při přetržení je síla zaznamenaná v bodě přetrhu zkušebního vzorku v průběhu tahové zkoušky.
- Maximální síla je maximální síla zaznamenaná při protahování zkušebního vzorku do přetržení v průběhu tahové zkoušky při stanovených podmínkách.

Některé z výše uvedených veličin jsou znázorněny na **Obr. 7**.



**Obr. 7: Příklad průběhu křivky síla-tažnost<sup>32</sup>**

Teoretické podklady k ostatním zkouškám, které byly použity, jsou uvedeny v diplomových pracech Jany Ihraczké a Markéty Krejčové.<sup>2,3</sup>

## 4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1 Suroviny

Azid sodný	Chemapol, Praha
Chlorid sodný ČL 2005	Lachema, Brno
Isopropylmyristát	Sigma-Aldrich, Praha
Kofein ČL 2005	Kulich, Hradec Králové
Kyselina mravenčí 85%	Kulich, Hradec Králové
Methanol pro HPLC (Methanol Chromasolv <sup>®</sup> )	Sigma-Aldrich, Praha
Propylenglykol ČL 2005	Kulich, Hradec Králové
Tekutý parafín	Tamda, Olomouc
Tromethamol (Trizma)	Sigma-Aldrich, Praha
Tuk neutrální (Adeps solidus)	Kulich, Hradec Králové
Voda čištěná	UK-FaF, Hradec Králové
Voda pro HPLC	UK-FaF, Hradec Králové

Uvedené komerčně dostupné látky odpovídaly deklarované jakosti dle norem výrobců, resp. dodavatelů.

### 4.2 Testovaný materiál

Testované nanovláknenné membrány byly vyrobeny v provozních podmínkách a dodány firmou Elmarco. Každý druh membrány byl zaslán ve dvou provedení-řada A a B. Řada A označovala materiál, který nebyl radiačně sterilizován. Řada B označovala materiál, který byl radiačně sterilizován. Firma k testovaným membránám přiložila průvodní listy (**Obr. 8 až 10**). Materiál byl označen typem řady a pořadovým číslem v příslušné řadě, označení membrán v závorce je pracovní označení:

- 1A Polyvinylalkohol zesíťovaný kyselinou fosforečnou nesterilizovaný  
(PVA nesterilizováno)
- 2A Chitosan 93,6% nesterilizovaný  
(Chitosan nesterilizováno)
- 3A Kyselina (D,L) polymléčná nesterilizovaná  
(PLA nesterilizováno)
- 1B Polyvinylalkohol zesíťovaný kyselinou fosforečnou sterilizovaný  
(PVA sterilizováno)
- 2B Chitosan 93,6% sterilizovaný  
(Chitosan sterilizováno)
- 3B Kyselina (D,L) polymléčná sterilizovaná  
(PLA sterilizováno)

# Samples information document

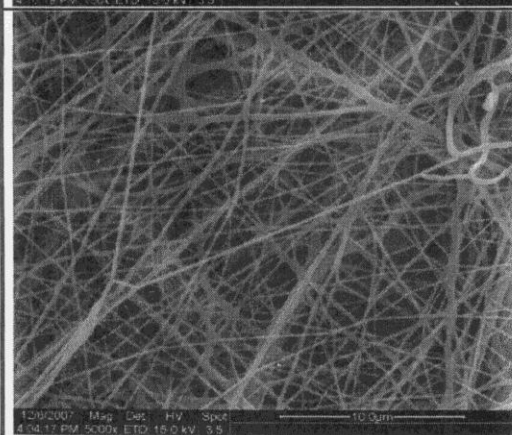
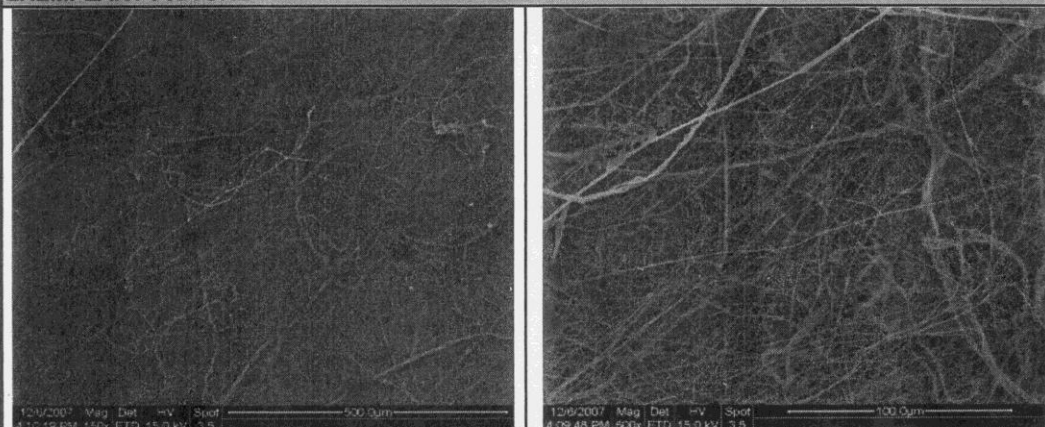


ORDER NO.			
COMPANY: (Customer)	Projekt 30006 - kožní náhrady	SAMPLE NO.	
Contact person (Elmarco):	Marcela Munzarová	Date:	7.12.2007

## SAMPLE DETAILS

Polymer	PVA crosslinked by H3PO4 (without glyoxal)		
Substrate	PP spunbond antist.		
Area weight	4.2		gsm
Usage purpose	skin replacement		
Defects			
Nanofibers' diameter	100 - 400		nm
Date of execution	3.12.2007		

## EXEMPLARY PICTURE



### Pictures' magnifications:



### Note:

Date of dispatch to customer:

Obr. 8: Průvodní list k membráně PVA

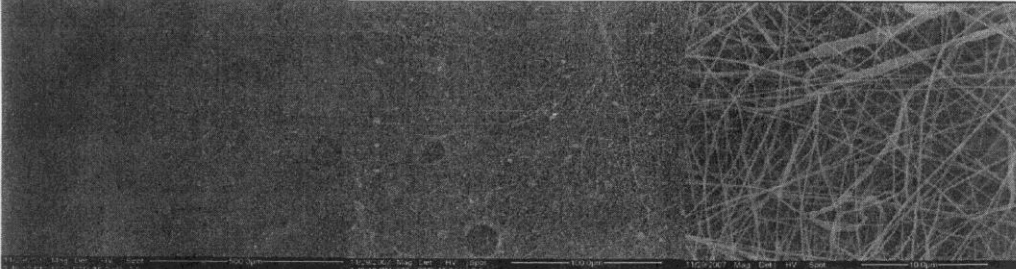


## Oddělení výzkumu a vývoje

Výzkumné motto: Nejdříve splň přání přírody a ona pak splní tvá přání.



**ELMARCO**  
SOPHISTICATED SOLUTIONS

		číslo zakázky
<b>za oddělení obchodu a marketingu</b>		
Zákazník:	30006 - Kožní náhrady	
Kontaktní osoba:	Ing. Marcela Munzarová	
Požadavek:	polymer: PT: PHm (g/m <sup>2</sup> ) rozměr ÚP ostatní:	chitosan 93,6% PP spunbond  1,0 x 0,3 m  10,48
Datum:	6.12.2007	
Vyjádření ke stanovisku RD:	zpráva:	
Datum:		
<b>za oddělení výzkumu a vývoje</b>		
<b>Převzetí vzorku a požadavku:</b>		
převzal:		
Datum:		
<b>Realizace požadavku:</b>		
požadavek realizoval:	Ing. Jana Svobodová	
dílčí úkol:		
datum:	27.11.2007	
<b>Hodnocení vzorku:</b>		
makrorovnoměrnost:	stupeň:	1 snímek:
adheze:	stupeň:	3
mikrorovnoměrnost:	stupeň:	1 snímek:
poruchy:	typ:	
Průměr vláken a distribuce průměrů:	nm:	120 nm (80 - 350)
Poznámka: Hodnoceno dle směrnice		
<b>Vzorový snímek:</b>		
150x	600x	5000x
		
<b>Poznámky:</b>		
síťování teplotně (135°C/60 min.) bez aldehydů		
<b>Vzorek schválil:</b>		
datum převzetí MS od RD		
Za RD schválil:		
Za MS schválil:		
Vzorek schválil:		
Datum odeslání zákazníkovi:		

RD05\_30006\_chitosan\_1048gsm\_271107/rev. 0/ Petráš / Petráš /G:\Public\Data\_vymena\1 GRANTOVÉ  
PROJEKTY\Kožní náhrady\30006 Kožní náhrady\průvodky vzorků\průvodky vzorků  
121207\RD05\_30006\_chitosan\_1048gsm\_271107/Karta vzorku1/1/12:12/10.12.2007

Obr. 9: Průvodní list k membráně CHITOSAN



# Samples information document

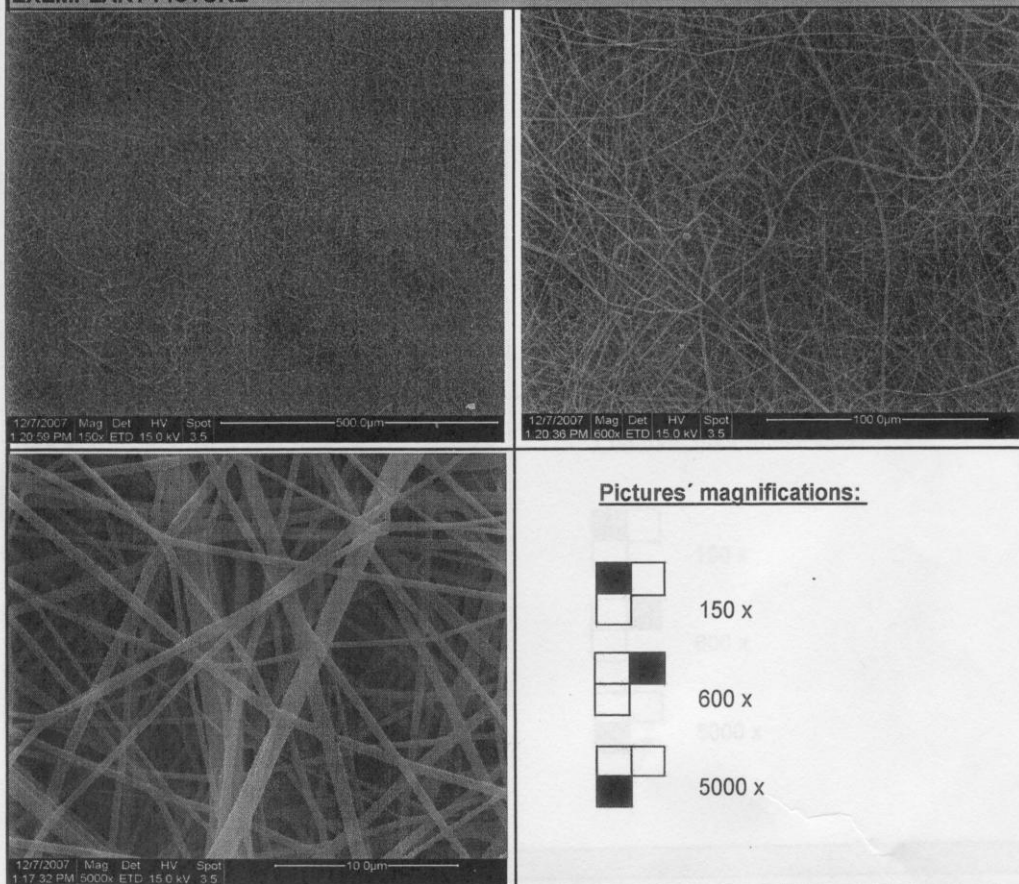


ORDER NO.	30006		
COMPANY: (Customer)	30006 - kólm nánady	SAMPLE NO.	PLA
Contact person (Elmarco):	Marcela Munzarová	Date:	7.12.2007

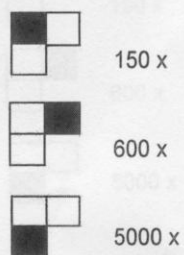
## SAMPLE DETAILS

Polymer	Polylactic acide (D,L)		
Substrate	Polypropylene spunbond with antistat. modification		
Area weight	3		gsm
Usage purpose			
Defects	without defects		
Nanofibers' diameter	600 - 1000		nm
Date of execution	7.12.2007		

## EXEMPLARY PICTURE



### Pictures' magnifications:



### Note:

Date of dispatch to customer:

Obr. 10: Průvodní list k membráně PLA



### 4.3 Přístroje

Analytické váhy Sartorius 2004 MP	Sartorius, Německo
Digitální fotoaparát Olympus Lens C-765 AF ZOOM 6,3-63 mm	Olympus, Japonsko
Digitální pH-metr GRYF 209L	Elektronické přístroje, Havlíčkův Brod
HPLC sestava	Agilent Technologies, USA
Agilent Technologies 1200 Series	
UV/VIS Detektor VWD G1414B	
Termostat TCC G1316A	
Autosampler ALS 1329A	
Degasser G1379B	
Izokratická pumpa G1310A	
Mikroskop Olympus BX51TF	Olympus, Japonsko
Mikroskopická digitální kamera (Pixelink PL-A662)	Pixelink, Kanada
Adaptérový kroužek (Olympus U-cmad3)	Olympus, Japonsko
Tenzometr Zwick/Roell Z050; Typ GSM 57M	Zwick, Německo
Čelisti – trhací	
Software testXpert v9.01	
Tloušťkoměr Mitutoyo ID-S1012B	Mitutoyo, Japonsko
Citlivost 0,01 mm	
Rozsah 12,7 mm	
Ultrazvuková lázeň	Tesla, Vráble
Vodní Lázeň Grant JB series; typ JB5	Grant Instruments, Velká Británie

### 4.4 Biologický materiál<sup>33,34</sup>

K permeačním pokusům pro hodnocení transdermálního průniku látek byla jako standardní biologická membrána použita prasečí kůže z uší čerstvě poražených samic prasete domácího *Sus scrofa* v. *domestica*. Byla použita pouze kůže samic, protože kůže z uší samců obsahující testosteron má pozměněnou celkovou strukturu kůže, propustnost a metabolismus. Prasečí kůže byla využita jako modelová membrána, protože je morfologicky, biochemicky a také permeačně podobná kůži lidské. Štěp kůže představoval plnou tloušťku kůže.

Boltce prasečích byly dodány masokombinátem v Hradci Králové za hygienických podmínek odpovídajícím ISO normě pro přepravu čerstvého masa k prodeji ke konzumním účelům a byly neprodleně zpracovány.

#### 4.4.1 Zpracování biologického materiálu

Postup zahrnoval očištění povrchu boltce, stažení kůže a následnou konzervaci.

##### Zpracování ušních boltců bachyň pro permeační pokusy

Ušní boltce zarudlé, potetované nebo jinak poškozené byly ze zpracování vyřazeny. Boltce byly omyty pod studenou tekoucí vodou a nechány volně okapat, případně osušeny filtračním papírem. Holícím strojkem byly očištěné boltce zbaveny na vnější straně štětín. Pomocí skalpelu byla stažena kůže z vnější strany boltce. Získaná kůže byla několikrát promyta fyziologickým roztokem (0,9% roztok chloridu sodného v čištěné vodě) a zkontrolována, zda nebyla během stahování poškozena a zda na ní nezbyla chrupavka a části masa. Vyhovující kůže byla ponechána ve fyziologickém roztoku a dále zpracována.<sup>33</sup>

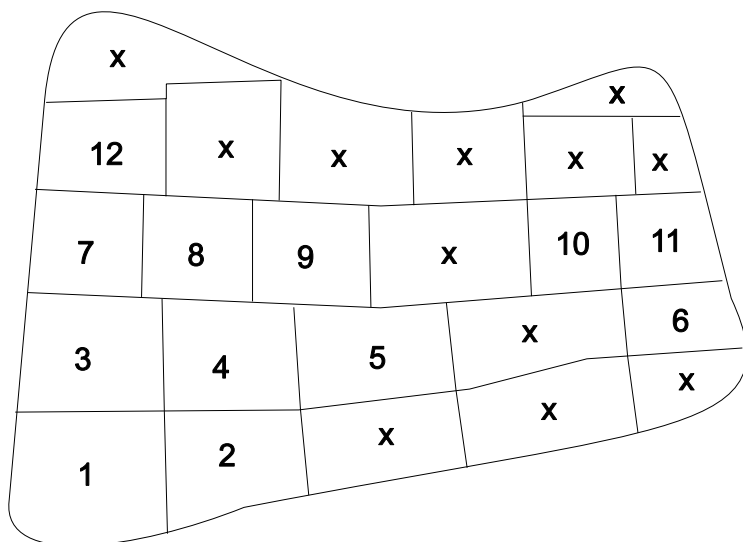
##### Zpracování intaktní prasečí kůže

Promyté stažené kůže získané výše uvedeným postupem byly ponořeny na 1 hodinu do konzervačního roztoku (4.5.1 *Příprava roztoku s azidem sodným*), následně důkladně osušeny filtračním papírem. Osušené kůže byly jednotlivě zabaleny do polypropylenové fólie a označeny štítkem (datum přípravy, pořadové číslo kůže) a zataveny. Takto konzervované kůže byly skladovány při teplotě nižší než  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .<sup>34</sup>

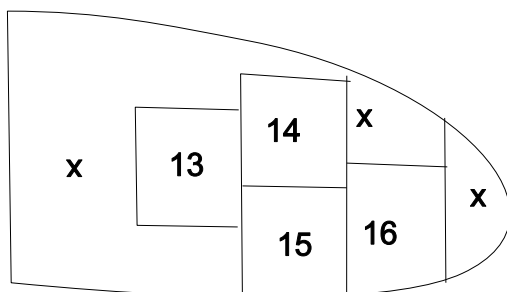
#### 4.4.2 Příprava biologického materiálu pro permeační pokusy

Zpracované kůže dle uvedeného postupu (4.4.1 *Zpracování biologického materiálu*) byly použity přímo pro permeační pokusy.

Zmražené kůže byly pomocí nůžek nastříhány na čtverečky zhruba  $2\text{ cm} \times 2\text{ cm}$ . Každý ustřižený kus byl pomyslně označen pořadovým číslem a tímto číslem pak byla označena (fixem) permeační cela, která příslušný čtvereček kůže obsahovala. Místa označená jako x nebyla použita z důvodu jejich malé velikosti nebo poškození jako zarudnutí, protržení. Rozložení nastříhaných kusů v rámci ucha a jejich číslování bylo zaznamenáno pro případ jakýchkoliv nejasností při permeačním pokusu. Náčrtek kůže je označen příslušným štítkem s datumem přípravy a pořadovým číslem kůže (**Obr. 11 a Obr. 12**).



Obr. 11: Náčrtek kůže číslo 24, 25. 9. 2008



Obr. 12: Náčrtek kůže číslo 15, 25. 9. 2008

## 4.5 Příprava roztoků, suspenzí

### 4.5.1 Příprava roztoku s azidem sodným

Roztok byl použit pro konzervaci biologického materiálu a označen jako tzv. konzervační roztok (4.4.1 Zpracování biologického materiálu).

Složení:

Azid sodný 0,2 g

Chlorid sodný 90,0 g

Voda čištěná 9910,0 g

Postup: Pevné podíly byly naváženy a rozpuštěny v příslušné hmotnosti vody čištěné.

#### 4.5.2 Příprava tromethamolového pufru

Pufr pH 7,1 byl použit jako akceptorová fáze pro kofein a pro přípravu kofeinových standardů.

##### Složení:

Azid sodný 0,02 g

Tromethamol 24,00 g

Voda pro HPLC 1000,00 g

Kyselina chlorovodíková na pH 7,1

Postup: Pevné podíly byly naváženy a rozpuštěny v příslušné hmotnosti vody pro HPLC. Pomocí kyseliny chlorovodíkové bylo pH roztoku upraveno na hodnotu 7,1 za použití digitálního pH-metru.

#### 4.5.3 Příprava 5% suspenze kofeinu

Suspenze byla použita ke standardizaci kůže pro permeační pokusy.

##### Složení:

Kofein 5,0 g

Propylenglykol 57,0 g

Voda čištěná 38,0 g

Postup: Navážený kofein byl rozetřen ve třecí misce a suspendován ve směsi propylenglykol : voda čištěná v poměru 3 : 2.

#### 4.5.4 Příprava mobilní fáze pro HPLC stanovení kofeinu

Byla použita směs vody pro HPLC a methanolu pro HPLC v poměru 75 : 25 s obsahem 0,2 % kyseliny mravenčí.

##### Složení:

Kyselina mravenčí 85% 2,35 g

Methanol pro HPLC 249,41 g

Voda pro HPLC 748,24 g

Postup: Kyselina mravenčí byla rozpuštěna ve směsi methanolu pro HPLC s vodou pro HPLC. Mobilní fáze byla před naplněním do chromatografické soustavy odplyněna pomocí ultrazvuku po dobu 10 minut.

#### 4.5.5 Příprava kofeinových standardů

Kofeinové standardy byly použity pro sestavení kalibrační přímky při HPLC stanovení kofeinu.

##### 1. První kalibrační křivka

Použité koncentrace standardů: 10,0mg/100ml; 5,0mg/100ml; 1,0mg/100ml; 0,5mg/100ml; 0,1/100ml

Navážka kofeinu: 0,01006 g

Postup: Navážka 0,01006 g kofeinu byla rozpuštěna ve 100ml tromethamolového pufru. Tím byl získán základní roztok o koncentraci kofeinu 10,0 mg/100 ml. Ostatní kofeinové standardy byly připraveny postupným ředěním základního roztoku.

##### 2. Druhá kalibrační křivka

Použité koncentrace standardů: 0,5mg/100ml; 0,1mg/100ml; 0,05mg/100ml; 0,01mg/100ml; 0,005mg/100ml

Navážka kofeinu: 0,0053 g

Postup: Navážka 0,0053 g kofeinu byla rozpuštěna ve 102,0937 g tromethamolového pufru. Tím byl získán základní roztok o přesné koncentraci kofeinu 5,1913 mg/100 g. Kofeinové standardy byly připraveny ředěním základního roztoku. Jejich přesná koncentrace byla zpětně dopočítána podle následujícího příkladu.

Příklad pro koncentraci 0,1mg/100ml:

Výpočet

$$\begin{array}{l} 5,1913 \text{ mg/100 g} \dots\dots\dots x \text{ g} \\ \underline{0,1 \text{ mg/100 g} \dots\dots\dots 5,0 \text{ g}} \\ x=0,0963 \text{ g a zbytek do 5,0 g doplnit tromethamolovým} \\ \text{puforem} \end{array}$$

Skutečné hmotnosti

naváženo 0,09336 g základního roztoku  
doplněno tromethamolovým puforem do 5,00073 g

Výpočet koncentrace na základě skutečných hmotností

$$\begin{array}{l} 5,1913 \text{ mg/100 g} \dots\dots\dots 0,09336 \text{ g} \\ \underline{x \text{ mg/100 g} \dots\dots\dots 5,00073 \text{ g}} \\ x=0,0969 \text{ mg} \end{array}$$

Přesná koncentrace roztoku o přibližné koncentraci 0,1 mg/100 ml je 0,0969 mg/100 g.

#### 4.5.6 Příprava 3% kofeinového základu AdS : IPM (8:2)

Základem byly napuštěny testované membrány, které byly dále použity k permeačním pokusům.

Složení:

Isopropylmyristát	1,94g
Kofein	0,30g
Neutrální tuk	7,76g

Postup: Navážený kofein byl rozetřen v třecí misce a byla k němu přidána tavenina neutrálního tuku (AdS) s isopropylmyristátem (IPM).

Poznámka: Obdobně byly připraveny základy kvalitativně stejného složení, ale jiného poměru AdS a IPM.

## 4.6 Tahové zkoušky

Tahové zkoušky byly provedeny na základě České technické normy (3.5.1 Česká technická norma ČSN EN ISO 13934<sup>32</sup>). Parametry a podmínky byly upraveny a přizpůsobeny možnostem pokusu, především limitovány množstvím netkané membrány. Pro testování byl použit přístroj Zwick/Roell Z050.

Pro zkoušky v tahu byly použity proužky membrán o rozměrech 5 cm × 1 cm. Materiál byl zkoušen ve směru podélném i ve směru příčném (to znamená ve směru výroby a ve směru kolmém na směr výroby). Okrajové části, prořídlá nebo jinak poškozená místa materiálu byla vyřazena. Byla zkoušena řada A a řada B. Od každého druhu membrány řady A i B a v závislosti na směru měření bylo testováno 5 vzorků.



**Obr. 13: Tloušťkoměr**

Pomocí tloušťkoměru (**Obr. 13**) byla zaznamenána tloušťka membrány, která byla použita softwarem pro výpočet dalších veličin. Proužek membrány byl vložen mezi čelisti delší stranou ve svislém směru. V použitém programu byly nastaveny parametry, které byly po celou dobu zkoušení neměnné (druh materiálu, snímač síly, upínací čelisti, upínací délka, předpětí, rychlost zkoušky, rychlost předzatěžování), a parametry, které byly měněny v závislosti na vzorku (tloušťka a šířka vzorku,

gramáž). Jejich konkrétní hodnoty jsou uvedeny v **protokolech č.1 až č.12** v části **5. DOKUMENTACE**.

Použitý software zpracoval vložená data a data získaná měřením do formy tabulek a grafů, které jsou uvedeny v **protokolech č.1 až č.12** v části **5. DOKUMENTACE**. Komentář je uveden v části **6. VÝSLEDKY A DISKUZE**.

## **4.7 Smáčivost a kontaktní úhel**

### Smáčivost

Testování polaritý membrán bylo provedeno vizuálním hodnocením chování membrány při styku s kapalinami o různých polaritách.

Pro testování polaritý vzorků membrán byla vybrána jako hydrofilní kapalina voda čištěná a jako lipofilní prostředí isopropylmyristát, tekutý parafín, Adeps solidus. Zkouška spočívala v prostém kápnutí určitého množství tekutiny na povrch membrány. Metodika a podmínky testování byly stanoveny na základě předchozího pozorování a zkoušení s přihlédnutím k obdobným technikám testování textilií v oděvním průmyslu. Výsledky jsou prezentovány v části **6. VÝSLEDKY A DISKUZE**.

Velikost ustřiženého proužku membrány: 1,5 cm × 2,0 cm

Kapalina a její množství:

Voda čištěná 40 µl

Tekutý parafín 40 µl

IPM 1 kapka = 0,02246 g

AdS 1 kapka = 0,01560 g

### Kontaktní úhel

Principem měření kontaktního úhlu vody na membráně bylo hodnocení fotografie bočního profilu kapky pomocí goniometrických funkcí.

Vzorek membrány byl položen na nasvícenou horizontálně umístěnou podložku. Mikropipetou bylo na povrch membrány nanášeno 40 µl vody pro HPLC (teplota vody 25° C, teplota vzduchu v prostředí 23 °C až 25 °C). Digitálním fotoaparátem byl zachycen boční průmět kapky a přenesen do počítače pro upravení obrázku kapky pro následný tisk. Na vytištěné fotografii byla narýsována tečna k povrchu kapky v bodě kontaktu membrána/voda/vzduch. Pomocí úhloměru byl odečten kontaktní úhel  $\Phi$ . Fotografie s narýsovanými tečnami a označenými úhly jsou zaneseny v části **5. DOKUMENTACE (Obr. 19 až 24)**. Hodnoty kontaktních úhlů jsou uvedeny v **tabulce 10** v části **6. VÝSLEDKY A DISKUZE**.

## 4.8 Nasákavost

Nasákavost jako schopnost membrány pojmout a zadržet tekutinu byla hodnocena na základě hmotnostního přírůstku oproti suché membráně.

Vzorek membrány (7 cm × 2 cm) byl zvážen na analytických vahách a ponořen na 3 minuty do pufru pH 5,5 (fosforečnanový pufr ČL 2005). Poté byl vyndán a po dobu jedné minuty byl nechán vykapat. Po vykapání byl zvážen. Podmínky testování byly stanoveny jako optimální na základě předchozího pozorování a zkoušení s přihlédnutím k obdobným technikám testování textilií v oděvním průmyslu.

Výsledky jsou prezentovány v **tabulce 11** v části **6. VÝSLEDKY A DISKUZE**.

## 4.9 Liberačně-permeační experiment

Pro charakterizaci membrány z hlediska jejího možného využití jako nosiče léčiva byl vybrán liberačně-permeační pokus. Jako permeant byl zvolen kofein z důvodu již vypracované metodiky transdermální permeace in vitro na Katedře farmaceutické technologie UK-FAF (známá doba permeace, intervaly odběrů, HPLC stanovení). Pro vpravení kofeinu do membrány byla použita technika napuštění membrány vehikulem s obsahem kofeinu.

### 4.9.1 Provedení pokusu

K pokusu byla použita permeační cela (**Obr. 14 a Obr. 15**) skládající se z donorového kompartmentu, dvou destiček z plexiskla a akceptorového kompartmentu. Akceptorová část slouží k zachycení zkoumané látky, která prošla kůží. Pomocí destiček je upevněn biologický materiál. Donorový válcový kompartment slouží k fixaci a případnému umístění dalších měřících součástí.

Vzorky kůže byly připraveny dle popisu *4.4 Biologický materiál*<sup>33,34</sup>. Jednotlivé kožní štěpy byly fixovány mezi dvě destičky z plexiskla, které byly opatřeny středovým kruhovým otvorem o ploše 1 cm<sup>2</sup> zajišťujícím kontakt kůže s akceptorovou fází. Exponovaná plocha kůže činila 1 cm<sup>2</sup>. Destičky s biologickým materiálem byly upevněny pomocí gumiček mezi akceptorovou (obsahovala vložené magnetické míchadlo) a donorovou část cely. Spoje mezi jednotlivými částmi buňky byly utěsněny silikonovým gelem.





Obr. 14. Rozložená permeační celda



Obr. 15. Složená permeační celda

Akceptorový kompartment permeační buňky byl naplněn akceptorovou fází, kterou byl tromethamolový pufr pH 7,1 (4.5.2 *Příprava tromethamolového pufru*). K plnění cely byla použita stříkačka o objemu 20 ml. Zbytkové množství fáze (to znamená množství fáze, které se do cely nevešlo) bylo vpraveno do kalibrovaných zkumavek, odečteno s přesností na 0,1 ml a použito k výpočtu přesného objemu akceptorové fáze v každé permeační cele. Hodnota přesného objemu akceptorové fáze byla použita při výpočtu koncentrace kofeinu.

Testované vzorky membrán a vzorky ke standardizaci kůže byly umístěny na vnější povrch kůže (4.9.2 *Liberačně-permeační pokus*).

Buňky byly vloženy do vodní lázně (**Obr. 16**) temperované na teplotu 32 °C (teplota během pokusu kolísala a pohybovala se v rozmezí od 32 °C do 35 °C). Obsah buněk byl neustále promícháván magnetickým míchadlem.



**Obr. 16: Vodní lázeň s vloženými permeačními celami**

Během pokusu byla sledována koncentrace kofeinu v akceptorovém médiu na základě odběru vzorků o objemu 0,8 ml v určitých časových intervalech (4.9.2 *Liberačně-permeační pokus*). Odebraný objem tekutiny byl nahrazen akceptorovou fází o stejném objemu a stejné teploty, to znamená o objemu 0,8 ml a teploty 32 °C. Hodnota chybějícího a doplňovaného objemu byla uvažována při výpočtech korigované koncentrace kofeinu. Odebrané vzorky byly uloženy do vialek, skladovány v lednici a po nasbírání většího množství vzorků analyzovány.

#### **4.9.2 Liberačně-permeační pokus**

Liberačně-permeační pokus zahrnoval v první fázi standardizaci kůže z hlediska průniku kofeinu ze suspenze léčiva ve směsi propylenglykolu (PG) a vody, po výměně donorových vzorků následovalo testování průniku kofeinu uvolněného ze zkoumaných impregnovaných membrán. Permeace byla zahájena standardizací, která trvala 10,5 hodin. Pak následovalo testování vlastních vzorků po dobu 59 hodin.

Ke standardizaci byla použita suspenze kofeinu ve směsi PG : voda (4.5.3 *Příprava 5% suspenze kofeinu*), pomocí které byla zjištěna individualita propustnosti kůže. Na vnější povrch kůže umístěné mezi dvě destičky permeační soustavy bylo mikropipetou nanесeno 200  $\mu$ l suspenze a středový permeační otvor byl překryt krycím sklíčkem, aby nedošlo k odpařování vzorku. Doba permeace byla 10,5 hodin a časy odběru byly po 6; 7,5; 9; 10,5 hodinách. Poté byla suspenze kofeinu představující marker nahrazena vlastními testovanými vzorky. Suspenze kofeinu byla vymyta vodou a plocha kůže vystavená permeaci byla omyta vodou

a zcela vysušena vatovým tamponem. Tromethamolový pufr v akceptorovém kompartmentu byl odstraněn a nahrazen novým. Na základě předpokladu, že koncentrace kofeinu uvolněného z membrány a permeovaného do akceptorové fáze bude nízká, byly provedeny následující kroky, které měly zpřesnit měření. To zahrnovalo dvojistou výměnu fáze a nultý odběr. 30 minut byly buňky ponechány ve vodní lázni bez jakéhokoliv donorového média pouze s nově vyměněnou akceptorovou fází, aby se kůže očistila od kofeinu z etapy standardizace. Tromethamolový pufr byl opět odstraněn a nahrazen novým. Teprve nyní byly umístěny do permeační soustavy vlastní vzorky, donorové médium představované impregnovanými membránami. Po 15 minutách permeace byly odebrány vzorky akceptorové fáze, které byly označeny jako nultý odběr a které představovaly zbytkovou koncentraci kofeinu z etapy standardizace. Hodnoty koncentrací kofeinu v čase nula byly odečteny od hodnot v příslušných časech odběru, čímž byly získány skutečné koncentrace kofeinu.

Pro vlastní testování liberace kofeinu z impregnovaných membrán byly použity kruhové výřezy membrán o ploše  $1\text{ cm}^2$  napuštěné kofeinem v AdS : IPM (4.9.4 Příprava membrán pro permeační pokusy). Jednotlivá kolečka membrán byly vloženy pomocí pinzety do permeačního otvoru na vnější povrch kůže. Doba permeace byla 59 hodin a časy odběru byly po 11; 15; 19; 23; 35; 39; 43; 47; 59 hodinách.

#### **4.9.3 Výběr vehikula pro napuštění membrán**

Na základě zkoušek smáčivosti a kontaktních úhlů membrán, u nichž se prokázal vodoresistentní charakter membrán, bylo vybráno lipofilní vehikulum. V úvahu přicházel AdS nebo jeho směsi s IPM, od kterých bylo očekáváno, že roztaveným základem s kofeinem bude napuštěna membrána, roztavený základ se ponechá ztuhnout, při teplotě lidského těla bude základ tát a uvolňovat léčivo. Jako parametry hodnocení vhodnosti vehikula bylo vybráno chování vehikula vůči membráně a vůči léčivu. Za ideální vehikulum bylo označeno takové, které se vsákne do membrány, ztuhne, za pokojové teploty nebude měnit svůj vzhled, při teplotě lidského těla roztaje, jeho viskozita umožní maximálně možnou schopnost difúze léčivé látky.

Jako potenciální vehikula byla vybrána:

AdS 1 kapka = 0,01560 g

AdS : IPM (9:1) 1 kapka = 0,02573 g

AdS : IPM (8:2) 1 kapka = 0,03419 g

AdS : IPM (7:3) 1 kapka = 0,04357 g

V první fázi byly testovány membrány napuštěné vehikulem bez kofeinu. Na základě výsledků první fáze byl vybrán užší výběr základů pro další hodnocení. Tyto základy pak byly smíchány s kofeinem tak, aby vznikla 3% suspenze (4.5.6 Příprava 3% kofeinového základu AdS : IPM (8:2)), a byly dále testovány. Níže popsaným způsobem byly zkoušeny všechny membrány řady A se všemi základy.

#### Testování vehikula bez přídavku kofeinu

Dvě kapky roztaveného základu byly skleněnou tyčinkou přeneseny na membránu (2 cm × 2 cm), která ležela na vyhřáté podložce. Vyhřátá podložka měla zabránit tomu, aby základ neztuhl dříve, než ho nasaje membrána. Zhruba po jedné hodině byly dány napuštěné membrány do termostatu na 37 °C po dobu 24 hodin.

Vzorky byly hodnoceny po vsáknutí základu (a odebrání z vyhřáté podložky), za běžné pokojové teploty a po vyjmutí z termostatu, který měl simulovat aplikaci na lidskou kůži (**Tabulka 2**). Poté byly membrány se základy pozorovány pod mikroskopem, ale mezi jednotlivými vehikuly nebyl nalezen žádný rozdíl, který by některou směs mohl vyloučit či potvrdit. Na základě vzhledu membrány po vsáknutí a ztuhnutí základu byla vybrána pro další testování vehikula AdS : IPM v poměrech 9:1 a 8:2.

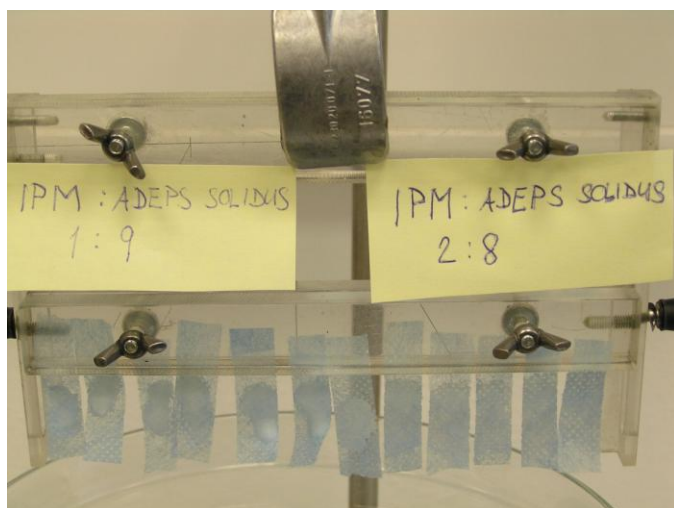
Vehikulum	po vsáknutí	chování za pokojové teploty	po vyjmutí z termostatu
AdS	zcela ztuhlo	vzhled se nezměnil	zcela roztálo
AdS:IPM 9:1	téměř ztuhlo		
AdS:IPM 8:2	částečně ztuhlo		
AdS:IPM 7:3	téměř neztuhlo		

**Tabulka 2: Hodnocení vzhledu membrány napuštěné vehikulem**

### Testování 3% kofeinového základu AdS : IPM v poměrech 9:1 a 8:2

Dvě kapky roztaveného základu s mikronizovaným kofeinem byly skleněnou tyčinkou přeneseny na membránu (2 cm × 2 cm), která ležela na vyhřáté podložce. Vyhřátá podložka měla zabránit tomu, aby základ neztluhl dříve, než ho nasaje membrána. Po vsáknutí a ztuhnutí byly napuštěné membrány pozorovány pod mikroskopem. Zhruba po jedné hodině byly dány napuštěné membrány do termostatu na 37 °C po dobu 24 hodin.

Dvě kapky roztaveného základu s mikronizovaným kofeinem byly skleněnou tyčinkou přeneseny na proužek membrány (1 cm × 5 cm), který byl okamžitě zavěšen do stojanu (**Obr. 17**). Po jedné hodině byl napuštěný proužek přenesen na lidskou kůži.



**Obr. 17: Membrány napuštěné vehikulem s kofeinem**

Hodnocení pod mikroskopem stejně jako v předchozím případě a hodnocení vzhledu po vsáknutí, za pokojové teploty a po vyjmutí z termostatu (**Tabulka 3**) nepřineslo žádnou informaci k tomu, který ze dvou základů má být vybrán. Při zkouškách zavěšením do svislé polohy (**Obr. 17**) nebylo ani u jednoho základu pozorováno stečení či odkapávání z membrány. Základ o poměru 8:2 se vsákl do membrány a základ o poměru 9:1 vytvořil nepatrné hrudky. Bylo to způsobeno spíše tím, že dříve, než se stačil vstřebat do membrány, tak ztluhl. Po přiložení na kůži nebyl zaznamenán zřetelný rozdíl, nepatrně se zdálo, že základ o poměru 8:2 roztál rychleji a tudíž se mohl rychleji vstřebat. Tento poznatek byl velice subjektivní a v rozhodování neměl téměř žádný vliv.

Vehikulum s mikronizovaným kofeinem	po vsáknutí	chování za pokojové teploty	po vyjmutí z termostatu
AdS:IPM 9:1	téměř ztuhlo	vzhled se nezměnil	zcela roztálo
AdS:IPM 8:2	částečně ztuhlo		

**Tabulka 3: Hodnocení vzhledu membrány napuštěné vehikulem s mikronizovaným kofeinem**

Pro napuštění membrán kofeinem byl vybrán 3% kofeinový základ AdS : IPM v poměru 8:2, protože dokonale přilnul k membráně, po vsáknutí ztuhl, za pokojové teploty nezměnil vzhled, při teplotě lidského těla roztál. Zásadním důvodem, kterým se odlišoval a pro který byl vybrán, byla jeho viskozita. Uvedená směs je viskozitně vhodná, to znamená nepříliš tekutá, aby stekla v zavěšeném stavu z membrány, a zároveň dostatečně tekutá, aby vytvořila vhodné difúzní prostředí pro kofein.

#### 4.9.4 Příprava membrán pro permeační pokusy

Pro permeaci byly vybrána řada A. Od každého druhu membrány byly testovány 4 vzorky. Testované membrány měly tvar kolečka o ploše 1 cm<sup>2</sup> a byly napuštěné 3% kofeinovým základem (4.5.6 Příprava 3% kofeinového základu AdS : IPM (8:2)).

Na čtvereček membrány 2 cm × 2 cm byly skleněnou tyčinkou kápnuty dvě kapky základu (1 kapka = 0,03419 g). Po ztuhnutí taveniny bylo vyrážecí metodou vyraženo kolečko o ploše 1 cm<sup>2</sup>. Celá plocha kolečka obsahovala ztuhlý základ.

##### Výpočet kofeinu obsaženého v membráně o ploše 1 cm<sup>2</sup>

Výpočet množství kofeinu v membráně byl proveden kvůli následnému propočtu metody HPLC a detekční meze chromatografie.

Bylo zváženo pět prázdných koleček membrán a vypočítána průměrná hmotnost. To samé bylo provedeno s pěti kolečky obsahujícími kofeinový základ (Tabulka 4).

Kolečka	hmotnost [g]					průměrná hmotnost [g]	rozdíl průměrných hmotností
membrána bez kofein. základu	0,00235	0,00129	0,00258	0,00152	0,00154	0,00186	0,03517
membrána s kofein. základem	0,00786	0,01044	0,00751	0,01518	0,00752	0,03703	

**Tabulka 4: Hmotnosti vyražených koleček pro výpočet množství kofeinu obsaženého ve vyraženém kolečku**

Byla vypočítána průměrná hmotnost základu v  $1 \text{ cm}^2$  a v něm obsažený kofein, na základě čehož bylo možné konstatovat, že citlivost detektoru bude s rezervou dostatečná.

Výpočet množství kofeinu obsaženého v membráně o  $1 \text{ cm}^2$ :

3 g kofeinu.....100 g základu

x g kofeinu.....0,03517 g základu

x= 0,0010551 g kofeinu

#### 4.9.5 Schéma provedení permeace

Při standardizaci kůže obsahovaly všechny permeační otvory cel 5% suspenzi kofeinu (4.5.3 Příprava 5% suspenze kofeinu).

Při testování (při vlastní permeaci) obsahovaly některé cely jednotlivé membrány napuštěné kofeinovým základem (4.5.6 Příprava 3% kofeinového základu AdS : IPM (8:2)) a některé pouze kofeinový základ bez membrány jako slepý vzorek. Každá napuštěná membrána byla zastoupena čtyřmi vzorky, stejně tak i slepý vzorek. Obsah jednotlivých permeačních cel uvádí **tabulka 5**. Časové schéma je shrnuto v **tabulce 6**.

číslo cely	standardizace	testování	číslo cely	standardizace	testování
1	5% suspenze kofeinu	membrána PVA	9	5% suspenze kofeinu	membrána PLA
2	5% suspenze kofeinu	membrána PVA	10	5% suspenze kofeinu	membrána PLA
3	5% suspenze kofeinu	membrána PVA	11	5% suspenze kofeinu	membrána PLA
4	5% suspenze kofeinu	membrána PVA	12	5% suspenze kofeinu	membrána PLA
5	5% suspenze kofeinu	membrána Chitosan	13	5% suspenze kofeinu	kofeinový základ
6	5% suspenze kofeinu	membrána Chitosan	14	5% suspenze kofeinu	kofeinový základ
7	5% suspenze kofeinu	membrána Chitosan	15	5% suspenze kofeinu	kofeinový základ
8	5% suspenze kofeinu	membrána Chitosan	16	5% suspenze kofeinu	kofeinový základ

**Tabulka 5: Rozložení vzorků v permeačních celách při standardizaci a při vlastní permeaci**

	časové intervaly odběrů po x hod od počátku permeace								
standardizace	6	7,5	9	10,5					
vlastní permeace	0	11	15	19	23	39	43	47	59

**Tabulka 6: Časové schéma permeace**

## 4.9.6 HPLC stanovení kofeinu

### 4.9.6.1 Akceptorová fáze

Kofein je léčivo obtížně rozpustné ve vodě. K dosažení částečného zvýšení rozpustnosti kofeinu ve vodě a zajištění konstantního pH v akceptorovém médiu, byl s odkazem na práci obdobného experimentálního zaměření<sup>35</sup> rovněž použit jako akceptorová fáze tromethamolový pufr (4.5.2 *Příprava tromethamolového pufru*).

### 4.9.6.2 Mobilní fáze

Jako mobilní fáze byla použita směs methanolu pro HPLC a vody pro HPLC v poměru 25 : 75 s obsahem 0,2 % kyseliny mravenčí (4.5.4 *Příprava mobilní fáze pro HPLC stanovení kofeinu*).



#### 4.9.6.3 Podmínky HPLC analýzy

Části a označení analytického setu jsou uvedeny v části 4.3 *Přístroje*.



**Obr. 18: Analytický set Agilent Technologies**

Kolona: Agilent Technologies ZORBAX Eclipse Plus C18  
kolona o délce 150 mm, průměru 4,6 mm,  
s oktadecylsilanovým sorbentem o velikosti částic 5  $\mu\text{m}$

Předkolona: Agilent Technologies ZORBAX Eclipse Plus C18  
předkolona o délce 12,5 mm, průměru 4,6 mm, zrnitostí 5  $\mu\text{m}$

Detekce: spektrofotometrická při 272 nm

Teplota kolony: 30 °C

Průtok mobilní fáze: 1 ml/min

Max. tlak: 400 atm

Min. tlak: 0 atm

Délka analýzy: 7,5 min

Objem nanášeného vzorku: 20  $\mu\text{l}$

Stálost naměřené hodnoty byla ověřována vzorkem standardního roztoku, který byl dávkován před, v polovině (po 14 nástřicích na kolonu) a po stanovení každé série vzorků (po 28 nástřicích). Vzorek vody byl zařazený za účelem promytí systému před a po stanovení každé série vzorků (po 28 nástřicích) a také po každém ze dvou nejkoncentrovanějších standardních roztocích, které vnášely do systému vysokou koncentraci analytu.

#### 4.9.6.4 Kalibrační přímka kofeinu

Pro sestavení kalibrační křivky byly použity standardní roztoky o koncentracích 10,0mg/100ml; 5,0mg/100ml; 1,0mg/100ml; 0,5mg/100ml; 0,1mg/100ml, které byly připraveny dle návodu 4.5.5 *Příprava kofeinových standardů* 1. *První kalibrační křivka*. Po první sadě HPLC stanovení bylo zjištěno, že některé odebrané vzorky analytický set nedetekuje z důvodu vysokých koncentrací standardních roztoků vzhledem k nízkým koncentracím analytu.

Pro sestavení nové kalibrační křivky byly zvoleny standardní roztoky o řádově nižších koncentracích 0,5mg/100ml; 0,1mg/100ml; 0,05mg/100ml; 0,01mg/100ml; 0,005mg/100ml. Pro dosažení větší spolehlivosti byly standardní roztoky pro novou kalibrační přímku připraveny odlišným postupem než u první kalibrační křivky dle návodu 4.5.5 *Příprava kofeinových standardů* 2. *Druhá kalibrační křivka*.

Každý kalibrační roztok byl proměřen a na základě získaných dat byla sestrojena kalibrační křivka (**Graf 1**). Parametry přímky byly stanoveny metodou lineární regrese. Kalibrační přímka a její parametry jsou uvedeny:

Regresní funkce:  $y = kx + q$

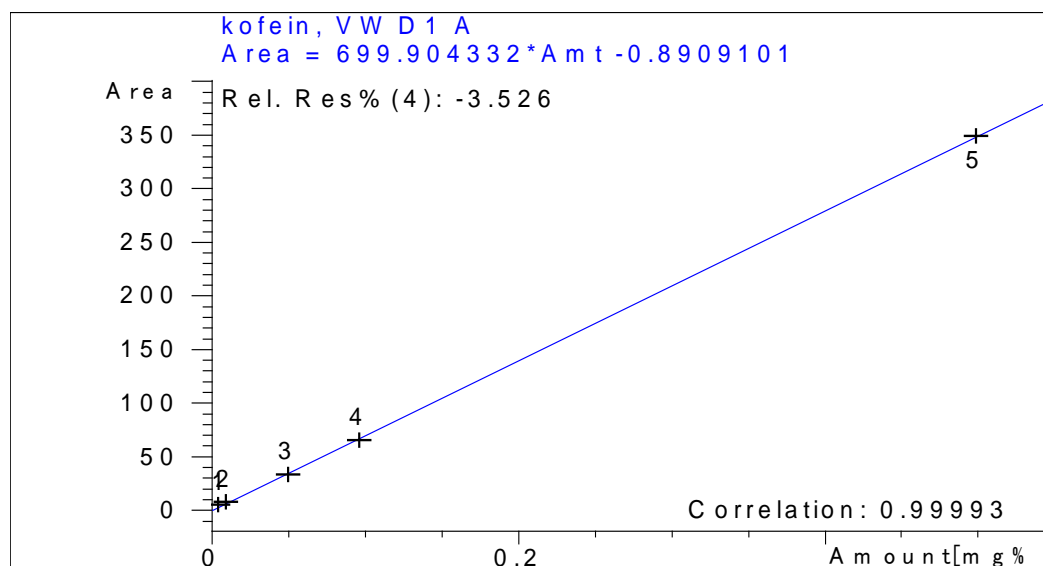
Výsledná rovnice:  $y = 699,90x - 0,89$

kde y...plocha píku kofeinu

x...koncentrace kofeinu (mg/100ml)

Koeficient korelace r 0,99993

Závislost plochy píku na koncentraci byla prokázána se spolehlivostí 99,99 %.



Graf 1: Kalibrační přímka kofeinu

Údaje z permeačních pokusů jsou spolu s grafickým vyjádřením obsahem protokolů **S1 až S16 a protokolů P1 až P16** a jsou uvedeny v části **5. DOKUMENTACE**. Výsledky permeačních pokusů, přehled hodnot fluxů v závislosti na druhu materiálu jsou zaneseny v **grafu 8 a tabulce 12**, příklady chromatografických záznamů z HPLC stanovení kofeinu jsou zaneseny v **grafu 9 a 10** v části **6. VÝSLEDKY A DISKUZE**.

#### **4.9.7 Zpracování dat získaných při HPLC stanovení**

HPLC stanovením kofeinu v odebraných vzorcích z permeačních pokusů byla získána primární data, která byla vyjádřena jako nekorigovaná koncentrace  $c_{nk}$ . Pomocí počítačového programu byl nekorigovaný údaj přepočten na údaj korigované koncentrace  $c_k$ , zohledňující průběžný odběr vzorků a doplňování čisté akceptorové fáze o objemu  $\Delta V_{dop}$ , včetně rozdílných objemů akceptorové fáze v permeačních buňkách na počátku pokusu  $V_o$ . Získané údaje byly vyjádřeny množstvím kofeinu, který prostoupil kožní membránou do akceptorového média  $Q_t$  [ $\mu g$ ] a jako množství permeantu prošlého membránou o ploše  $1 \text{ cm}^2$  do akceptorové fáze  $Q_t$  [ $\mu g / \text{cm}^2$ ].

Byla vynesena kumulativní časová závislost množství penetrovaného kofeinu a s využitím metody lineární regrese vypočteny příslušné hodnoty směrnice rovnovážného průběhu permeace, které číselně odpovídají hodnotám fluxů  $J$ .

## 5. DOKUMENTACE

### 5.1 Tahové zkoušky

Pojmy použité v **protokolech č.1 až č.12** jsou vysvětleny v teoretické části *3.5.1 Česká technická norma ČSN EN ISO 13934<sup>32</sup>* a v části *6.1 Tahové zkoušky*. Použité zkratky jsou uvedeny v části **13. SEZNAM ZKRATEK**.

## Protokol č. 1: PVA sterilizováno, měřeno podélně

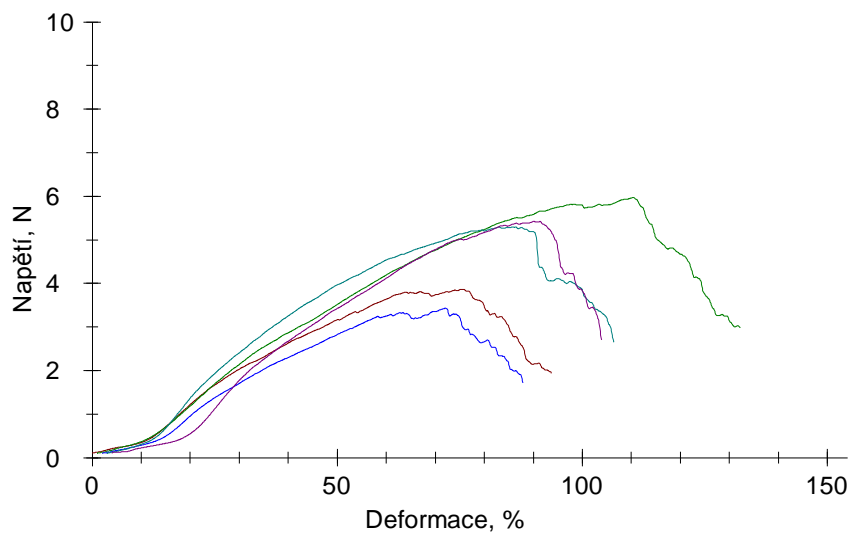
Parametry měření:

Materiál	PVA sterilizováno, měřeno podélně
Druh materiálu	textil, papír
Snímač síly	10 N
Upínací čelisti	trhací čelisti
Upínací délka	20 mm
Předpětí	0,1 N
Rychlost předzatěžování	10 mm/min
Rychlost zkoušky	50 mm/min
Šířka vzorku	10 mm
Gramáž	4,2 g/cm <sup>2</sup>

Výsledky:

číslo vzorku	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	Flom N	εlom %	εFmax %
1	0,22	21,15	1,76	0,42	1,93	93,67	75,78
2	0,20	20,93	2,99	0,71	2,98	131,19	109,46
3	0,18	21,02	1,90	0,45	1,71	85,89	69,91
4	0,19	20,9	2,79	0,66	2,65	103,48	82,75
5	0,17	20,12	3,19	0,76	2,71	99,9	86,07

Grafické záznamy:



Statistika:

Série n = 5	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	Flom N	εlom %	εFmax %
průměr	0,19	20,83	2,53	0,60	2,39	102,83	84,79
směrodatná odchylka	0,02	0,41	0,65	0,14	0,55	17,21	15,14

## Protokol č. 2: PVA nesterilizováno, měřeno podélně

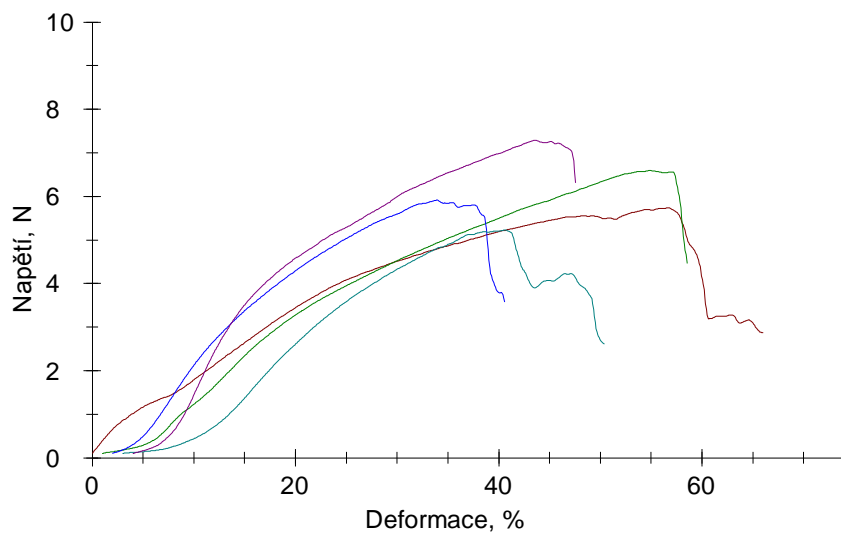
### Parametry měření:

Materiál	PVA nesterilizováno, měřeno podélně
Druh materiálu	textil, papír
Snímač síly	10 N
Upínací čelisti	trhací čelisti
Upínací délka	20 mm
Předpětí	0,1 N
Rychlost předzatěžování	10 mm/min
Rychlost zkoušky	50 mm/min
Šířka vzorku	10 mm
Gramáž	4,2 g/cm <sup>2</sup>

### Výsledky:

číslo vzorku	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σF <sub>max</sub> MPa	σF <sub>norm</sub> MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
1	0,14	21,15	4,10	0,98	2,87	66,02	56,65
2	0,15	20,43	4,40	1,05	4,46	57,57	53,90
3	0,11	20,74	5,38	1,28	3,58	38,56	31,96
4	0,19	20,18	2,75	0,65	2,61	47,39	37,64
5	0,17	20,55	4,29	1,02	6,31	43,54	39,65

### Grafické záznamy:



### Statistika:

Série n = 5	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σF <sub>max</sub> MPa	σF <sub>norm</sub> MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>Flom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
průměr	0,15	20,61	4,18	1,00	3,96	50,62	43,96
směrodatná odchylka	0,03	0,36	0,94	0,20	1,49	11,09	10,75

### Protokol č. 3: PVA sterilizováno, měřeno příčně

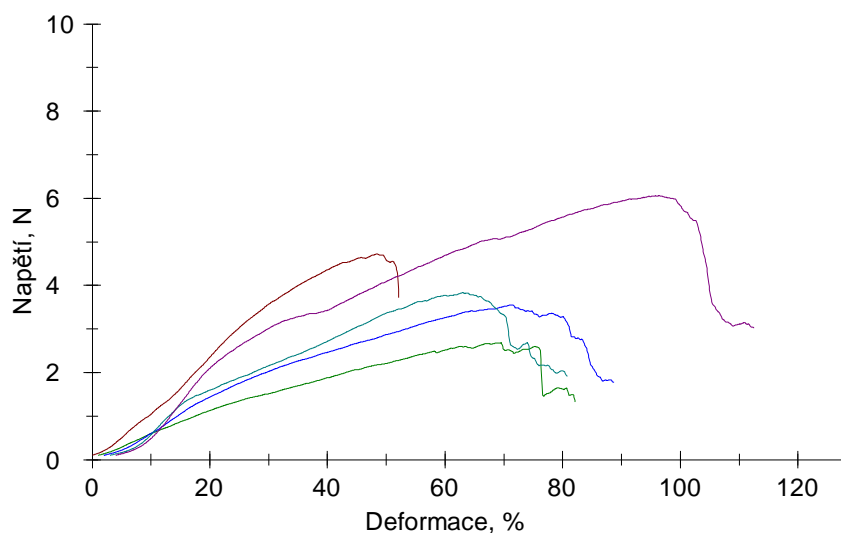
Parametry měření:

Materiál	PVA sterilizováno, měřeno příčně
Druh materiálu	textil, papír
Snímač síly	10 N
Upínací čelisti	trhací čelisti
Upínací délka	20 mm
Předpětí	0,1 N
Rychlost předzatěžování	10 mm/min
Rychlost zkoušky	50 mm/min
Šířka vzorku	10 mm
Gramáž	4,2 g/cm <sup>2</sup>

Výsledky:

Číslo vzorku	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σ Fmax MPa	σ Fnorm MPa	Flom N	ε lom %	ε Fmax %
1	0,14	22,12	3,37	0,80	3,72	52,13	48,43
2	0,12	23,25	2,24	0,53	1,32	81,10	68,52
3	0,15	22,36	2,37	0,56	1,77	86,75	69,61
4	0,19	22,50	2,02	0,48	1,91	77,72	59,98
5	0,15	21,89	4,04	0,96	3,02	108,5	92,35

Grafické záznamy:



Statistika:

Série n = 5	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σ Fmax MPa	σ Fnorm MPa	Flom N	ε lom %	ε Fmax %
průměr	0,15	22,42	2,81	0,68	2,35	81,24	67,78
směrodatná odchylka	0,03	0,52	0,86	0,18	0,99	20,21	16,15

## Protokol č. 4: PVA nesterilizováno, měřeno příčně

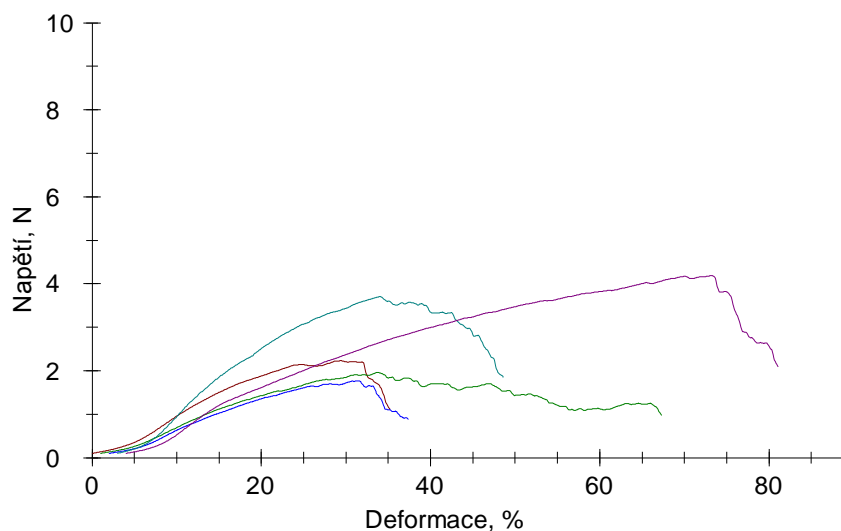
Parametry měření:

Materiál	PVA nesterilizováno, měřeno příčně
Druh materiálu	textil, papír
Snímač síly	10 N
Upínací čelisti	trhací čelisti
Upínací délka	20 mm
Předpětí	0,1 N
Rychlost předzatěžování	10 mm/min
Rychlost zkoušky	50 mm/min
Šířka vzorku	10 mm
Gramáž	4,2 g/cm <sup>2</sup>

Výsledky:

číslo vzorku	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
1	0,14	21,68	1,59	0,38	3,72	52,13	48,43
2	0,19	22,70	1,03	0,25	1,32	81,10	68,52
3	0,16	29,58	1,10	0,26	1,77	86,75	69,61
4	0,13	22,13	2,85	0,68	1,91	77,72	59,98
5	0,16	22,67	2,61	0,62	3,02	108,5	92,35

Grafické záznamy:



Statistika:

Série n = 5	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
průměr	0,16	23,75	1,84	0,44	2,35	81,24	67,78
směrodatná odchylka	0,02	3,29	0,85	0,18	0,99	20,21	16,15



## Protokol č. 5: Chitosan sterilizováno, měřeno podélně

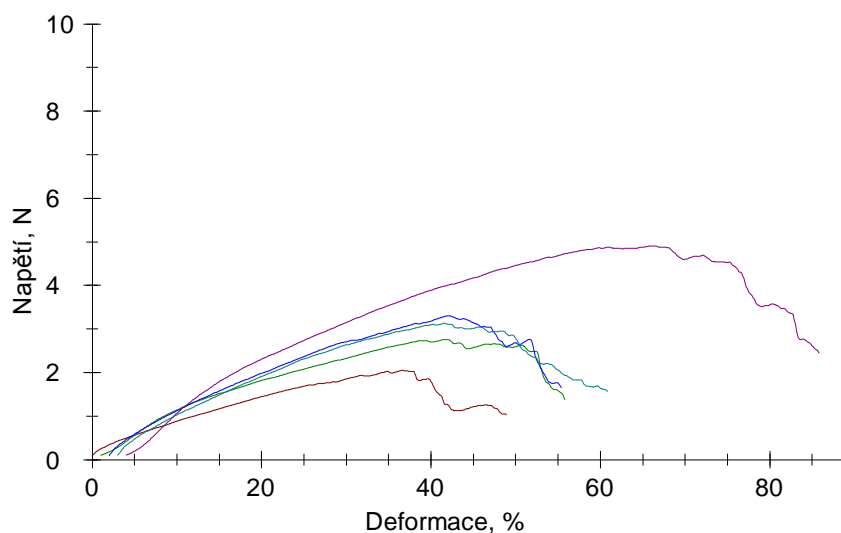
Parametry měření:

Materiál	Chitosan sterilizováno, měřeno podélně
Druh materiálu	textil, papír
Snímač síly	10 N
Upínací čelisti	trhací čelisti
Upínací délka	20 mm
Předpětí	0,1 N
Rychlost předzatěžování	10 mm/min
Rychlost zkoušky	50 mm/min
Šířka vzorku	10 mm
Gramáž	10,48 g/cm <sup>2</sup>

Výsledky:

Číslo vzorku	A <sub>0</sub> mm	L <sub>0</sub> mm	σF <sub>max</sub> MPa	σF <sub>norm</sub> MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
1	0,14	23,33	1,46	0,14	1,02	48,91	36,55
2	0,15	20,97	1,84	0,18	1,37	54,77	41,14
3	0,19	22,21	1,74	0,17	1,65	53,42	40,14
4	0,13	22,35	2,41	0,23	1,56	57,82	38,61
5	0,17	20,82	2,89	0,28	2,44	81,85	62,11

Grafické záznamy:



Statistika:

Série n = 5	A <sub>0</sub> mm	L <sub>0</sub> mm	σF <sub>max</sub> MPa	σF <sub>norm</sub> MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
průměr	0,16	21,94	2,07	0,20	1,61	59,35	43,71
směrodatná odchylka	0,02	1,05	0,57	0,05	0,52	12,98	10,43

## Protokol č. 6: Chitosan nesterilizováno, měřeno podélně

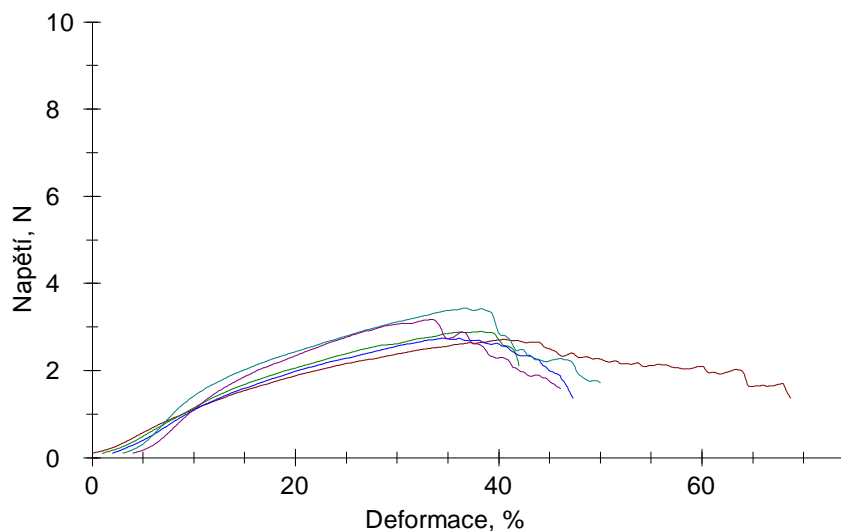
Parametry měření:

Materiál	Chitosan nesterilizováno, měřeno podélně
Druh materiálu	textil, papír
Snímač síly	10 N
Upínací čelisti	trhací čelisti
Upínací délka	20 mm
Předpětí	0,1 N
Rychlost předzatěžování	10 mm/min
Rychlost zkoušky	50 mm/min
Šířka vzorku	10 mm
Gramáž	10,48 g/cm <sup>2</sup>

Výsledky:

číslo vzorku	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
1	0,14	21,14	1,94	0,19	1,36	68,73	40,51
2	0,14	20,85	2,07	0,20	2,10	40,99	37,31
3	0,16	20,74	1,71	0,16	1,36	45,31	32,45
4	0,15	20,94	2,29	0,22	1,71	47,02	33,73
5	0,16	20,90	1,98	0,19	1,58	42,09	29,41

Grafické záznamy:



Statistika:

Série n = 5	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
průměr	0,15	20,91	2,00	0,19	1,62	48,83	34,68
směrodatná odchylka	0,01	0,15	0,21	0,02	0,31	11,39	4,32

## Protokol č. 7: Chitosan sterilizováno, měřeno příčně

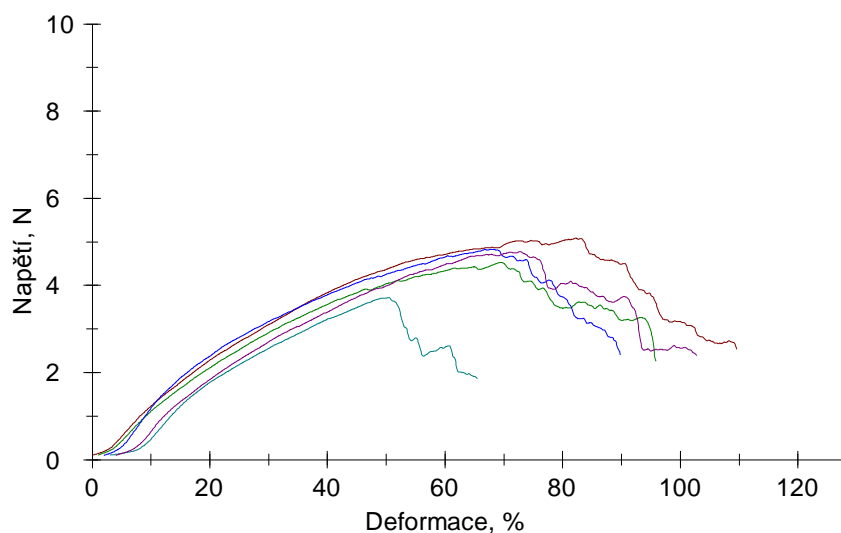
Parametry měření:

Materiál	Chitosan sterilizováno, měřeno příčně
Druh materiálu	textil, papír
Snímač síly	10 N
Upínací čelisti	trhací čelisti
Upínací délka	20 mm
Předpětí	0,1 N
Rychlost předzatěžování	10 mm/min
Rychlost zkoušky	50 mm/min
Šířka vzorku	10 mm
Gramáž	10,48 g/cm <sup>2</sup>

Výsledky:

číslo vzorku	A <sub>0</sub> mm	L <sub>0</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
1	0,13	20,60	3,91	0,37	2,53	109,55	82,17
2	0,15	20,50	3,02	0,29	2,25	94,86	68,44
3	0,15	20,51	3,22	0,31	2,41	87,81	66,20
4	0,11	20,09	3,38	0,32	1,86	62,45	47,51
5	0,14	20,56	3,41	0,33	2,39	98,80	68,72

Grafické záznamy:



Statistika:

Série n = 5	A <sub>0</sub> mm	L <sub>0</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
průměr	0,14	20,45	3,39	0,32	2,29	90,69	66,61
směrodatná odchylka	0,02	0,21	0,33	0,03	0,26	17,64	12,40

## Protokol č. 8: Chitosan nesterilizováno, měřeno příčně

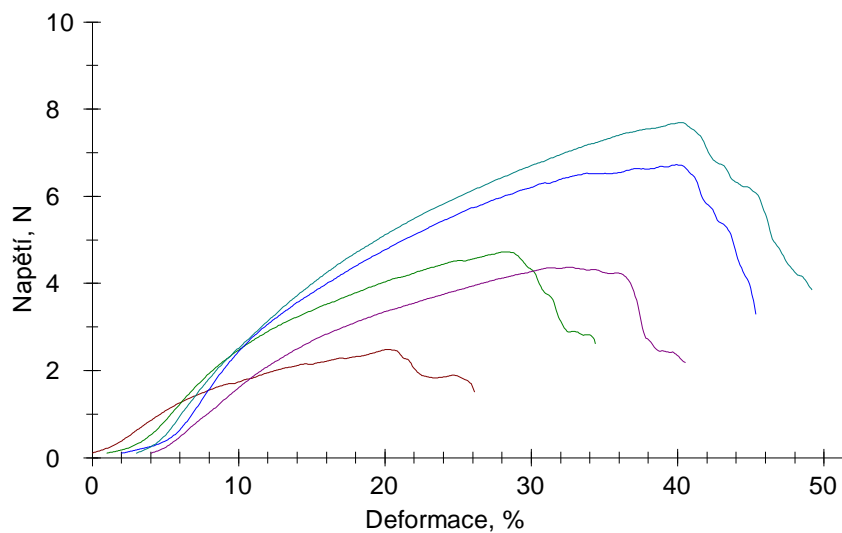
### Parametry měření:

Materiál	Chitosan nesterilizováno, měřeno příčně
Druh materiálu	textil, papír
Snímač síly	10 N
Upínací čelisti	trhací čelisti
Upínací délka	20 mm
Předpětí	0,1 N
Rychlost předzatěžování	10 mm/min
Rychlost zkoušky	50 mm/min
Šířka vzorku	10 mm
Gramáž	10,48 g/cm <sup>2</sup>

### Výsledky:

číslo vzorku	A <sub>0</sub> mm	L <sub>0</sub> mm	σ Fmax MPa	σ Fnorm MPa	Flom N	ε lom %	ε Fmax %
1	0,11	20,32	2,26	0,22	1,51	26,14	20,24
2	0,13	20,51	3,63	0,35	2,61	33,38	27,21
3	0,20	20,41	3,36	0,32	3,29	43,34	37,94
4	0,20	20,19	3,85	0,37	3,84	46,16	37,21
5	0,15	20,33	2,92	0,28	2,18	36,55	28,60

### Grafické záznamy:



### Statistika:

Série n = 5	A <sub>0</sub> mm	L <sub>0</sub> mm	σ Fmax MPa	σ Fnorm MPa	Flom N	ε lom %	ε Fmax %
průměr	0,16	20,35	3,20	0,31	2,69	37,11	30,24
směrodatná odchylka	0,04	0,12	0,63	0,05	0,92	7,99	7,41

## Protokol č. 9: PLA sterilizováno, měřeno podélně

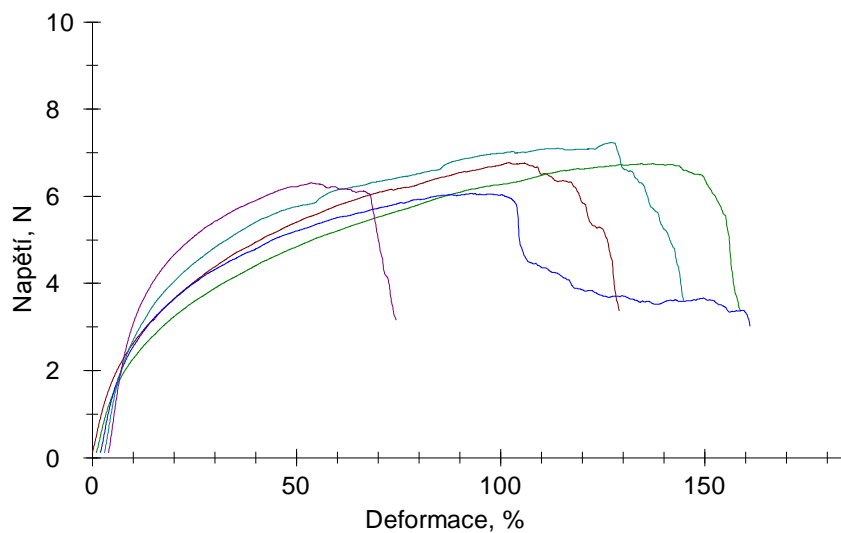
Parametry měření:

Materiál	PLA sterilizováno, měřeno podélně
Druh materiálu	textil, papír
Snímač síly	10 N
Upínací čelisti	trhací čelisti
Upínací délka	20 mm
Předpětí	0,1 N
Rychlost předzatěžování	10 mm/min
Rychlost zkoušky	50 mm/min
Šířka vzorku	10 mm
Gramáž	3 g/cm <sup>2</sup>

Výsledky:

číslo vzorku	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	Flom N	ε lom %	ε Fmax %
1	0,13	20,16	5,21	1,74	3,37	128,96	102,01
2	0,12	20,17	5,62	1,87	3,37	157,61	133,49
3	0,13	20,16	4,66	1,55	3,02	159,03	91,02
4	0,13	20,14	5,56	1,85	3,60	141,77	124,19
5	0,13	20,12	4,85	1,62	3,15	70,43	49,68

Grafické záznamy:



Statistika:

Série n = 5	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	Flom N	ε lom %	ε Fmax %
průměr	0,13	20,15	5,18	1,73	3,30	131,56	100,08
směrodatná odchylka	0,004	0,02	0,42	0,12	0,23	36,33	32,87

## Protokol č. 10: PLA nesterilizováno, měřeno podélně

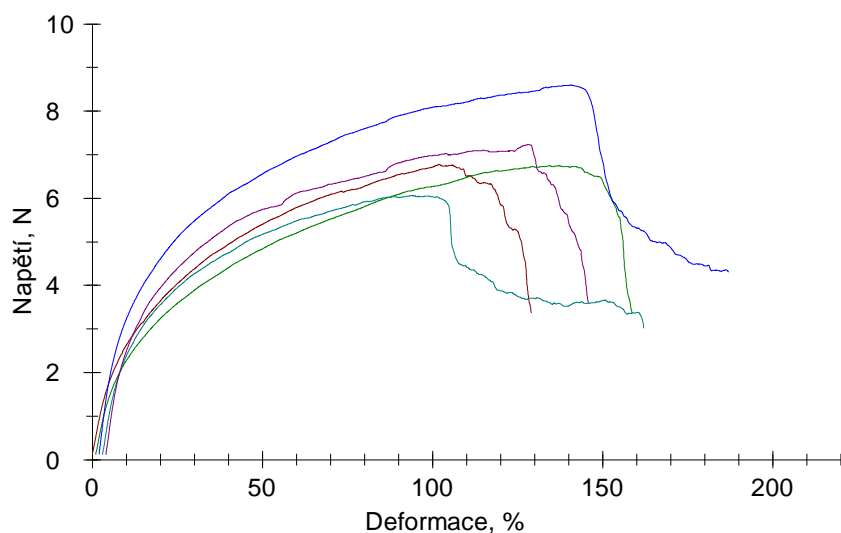
### Parametry měření:

Materiál	PLA nesterilizováno, měřeno podélně
Druh materiálu	textil, papír
Snímač síly	10 N
Upínací čelisti	trhací čelisti
Upínací délka	20 mm
Předpětí	0,1 N
Rychlost předzatěžování	10 mm/min
Rychlost zkoušky	50 mm/min
Šířka vzorku	10 mm
Gramáž	3 g/cm <sup>2</sup>

### Výsledky:

číslo vzorku	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
1	0,13	20,16	5,21	1,74	3,37	128,96	102,01
2	0,12	20,17	5,62	1,87	3,37	157,61	133,49
3	0,12	20,09	7,16	2,39	4,30	184,97	138,68
4	0,13	20,16	4,66	1,55	3,02	159,03	91,02
5	0,13	20,14	5,56	1,85	3,60	141,77	124,19

### Grafické záznamy:



### Statistika:

Série n = 5	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
průměr	0,13	20,14	5,65	1,88	3,53	154,47	117,88
směrodatná odchylka	0,005	0,03	0,93	0,25	0,48	21,05	20,55

## Protokol č. 11: PLA sterilizováno, měřeno příčně

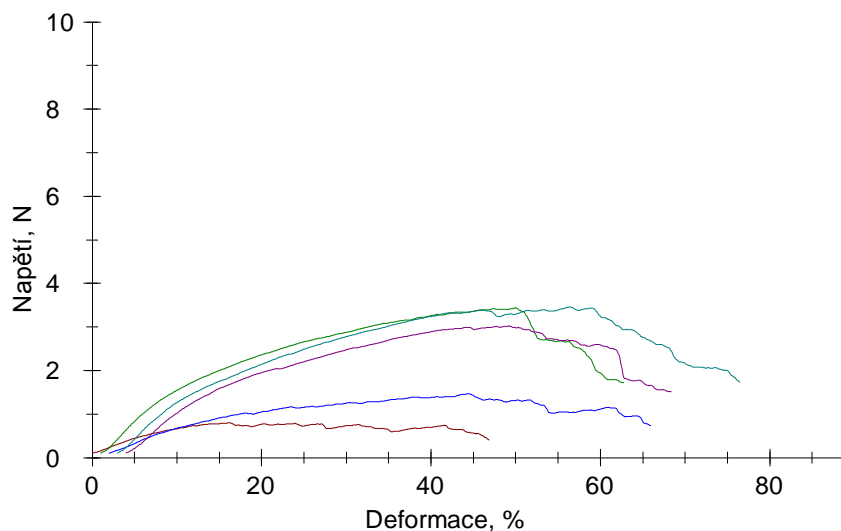
Parametry měření:

Materiál	PLA sterilizováno, měřeno příčně
Druh materiálu	textil, papír
Snímač síly	10 N
Upínací čelisti	trhací čelisti
Upínací délka	20 mm
Předpětí	0,1 N
Rychlost předzatěžování	10 mm/min
Rychlost zkoušky	50 mm/min
Šířka vzorku	10 mm
Gramáž	3 g/cm <sup>2</sup>

Výsledky:

číslo vzorku	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	F <sub>lom</sub> N	ε lom %	ε Fmax %
1	0,09	20,61	0,89	0,30	0,40	46,83	16,23
2	0,15	20,28	2,29	0,76	1,72	61,75	48,97
3	0,10	20,85	1,47	0,49	0,73	63,97	42,43
4	0,14	20,20	2,47	0,82	1,72	73,51	53,45
5	0,14	20,33	2,16	0,72	1,50	64,38	45,15

Grafické záznamy:



Statistika:

Série n = 5	A <sub>o</sub> mm	L <sub>o</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	F <sub>lom</sub> N	ε lom %	ε Fmax %
průměr	0,12	20,45	1,86	0,62	1,21	62,09	41,25
směrodatná odchylka	0,03	0,27	0,66	0,18	0,61	9,64	14,59

## Protokol č. 12: PLA nesterilizováno, měřeno příčně

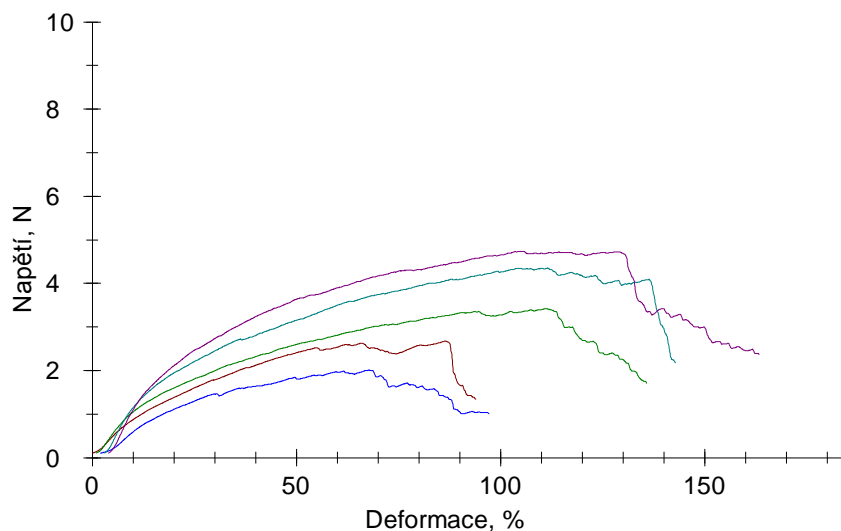
Parametry měření:

Materiál	PLA nesterilizováno, měřeno příčně
Druh materiálu	textil, papír
Snímač síly	10 N
Upínací čelisti	trhací čelisti
Upínací délka	20 mm
Předpětí	0,1 N
Rychlost předzatěžování	10 mm/min
Rychlost zkoušky	50 mm/min
Šířka vzorku	10 mm
Gramáž	3 g/cm <sup>2</sup>

Výsledky:

číslo vzorku	A <sub>0</sub> mm	L <sub>0</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
1	0,10	20,81	2,67	0,89	1,33	93,93	86,56
2	0,11	20,35	3,11	1,04	1,70	134,68	110,07
3	0,09	21,20	2,23	0,74	1,00	95,17	65,78
4	0,12	20,35	3,63	1,21	2,17	139,8	108,59
5	0,10	20,31	4,74	1,58	2,37	159,35	101,06

Grafické záznamy:

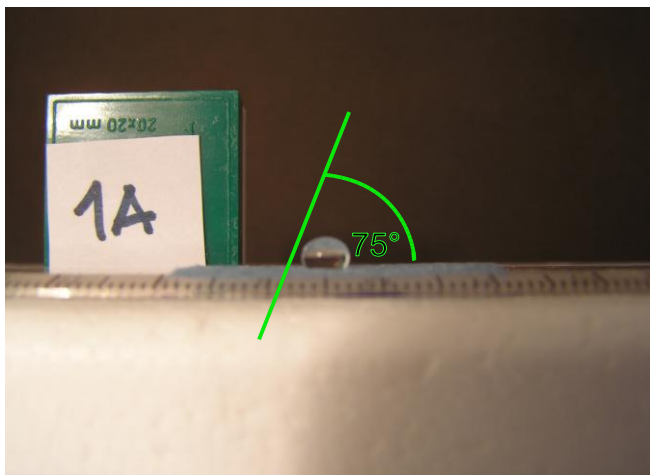


Statistika:

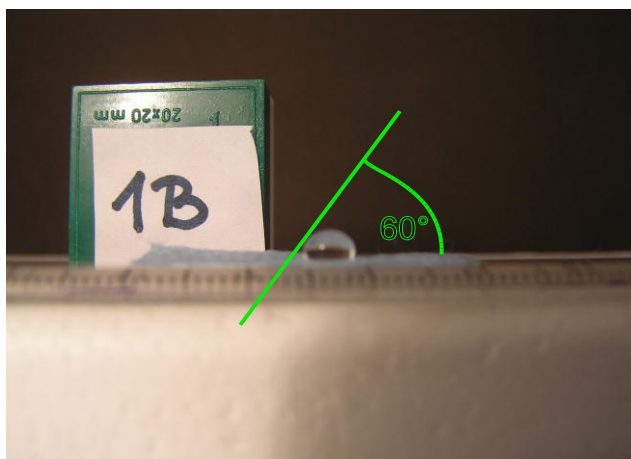
Série n = 5	A <sub>0</sub> mm	L <sub>0</sub> mm	σFmax MPa	σFnorm MPa	F <sub>lom</sub> N	ε <sub>lom</sub> %	ε <sub>Fmax</sub> %
průměr	0,10	20,60	3,28	1,10	1,72	124,59	94,41
směrodatná odchylka	0,01	0,39	0,97	0,26	0,57	28,93	18,52



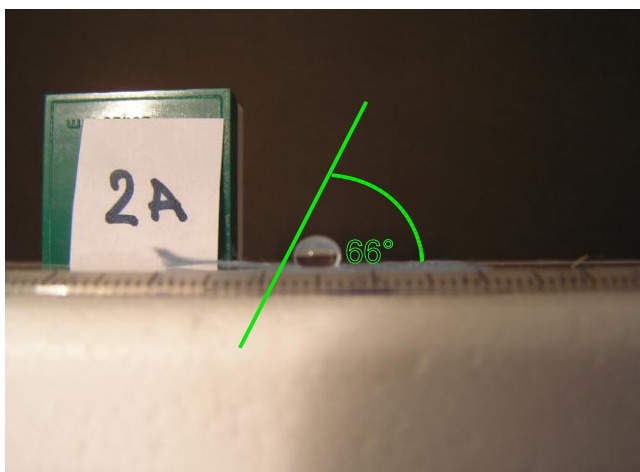
## 5.2 Kontaktní úhel



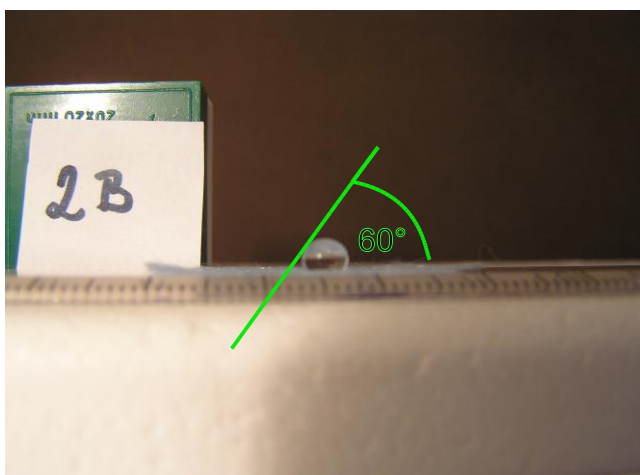
Obr. 19: Kontaktní úhel PVA nest.



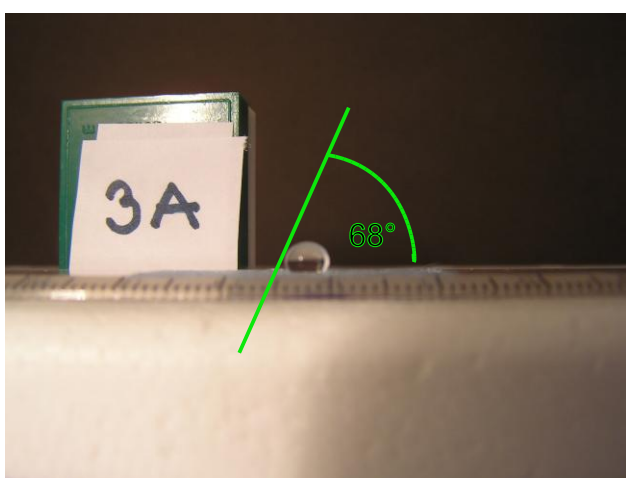
Obr. 20: Kontaktní úhel PVA steril.



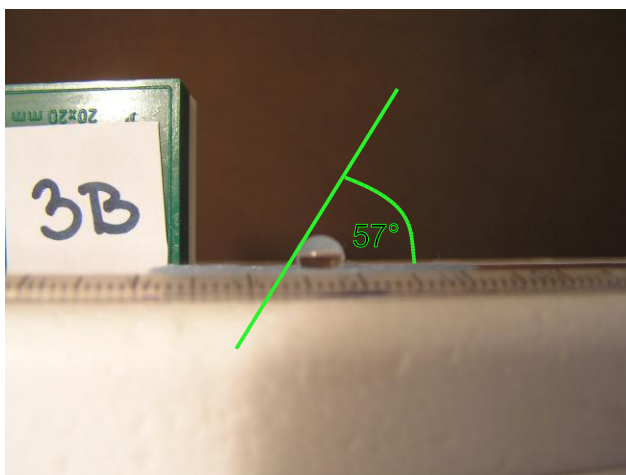
Obr. 21: Kontaktní úhel Chitosan nest.



Obr. 22: Kontaktní úhel Chitosan steril.



Obr. 23: Kontaktní úhel PLA nest.



Obr. 24: Kontaktní úhel PLA steril.

### 5.3 Liberačně-permeační pokus

Protokoly jsou označeny písmenem (P nebo S) a číslem, které označuje permeační celu (**Tabulka 5**). Zde jsou uvedeny vysvětlivky k protokolům, zbývající vysvětlivky jsou uvedeny v části **13. SEZNAM ZKRATEK**:

S	standardizace
P	vlastní permeace
5% SK	5% suspenze kofeinu
K A:I 8:2	vehikulum AdS : IPM (8:2) s mikronizovaným kofeinem

## Protokol S 1

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,4$

Kůže: 24/2008

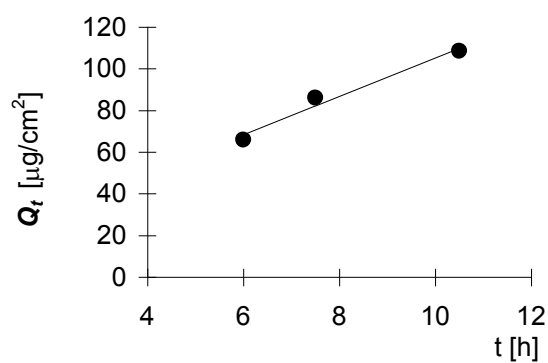
Donor: 5% SK

Měření: S 1

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,401	0,8	0,401	65,8	65,8
7,5	0,505	0,8	0,525	86,1	86,1
9	0,438	0,8	0,464	76,1	76,1
10,5	0,639	0	0,662	108,5	108,5

$t$	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	65,8	68,4
7,5	86,1	82,2
10,5	108,5	109,8

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 9,198993$
Abs. člen	$q = 13,21512$
Korelační koef.	$r = 0,987217$



## Protokol S 2

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17$

Kůže: 24/2008

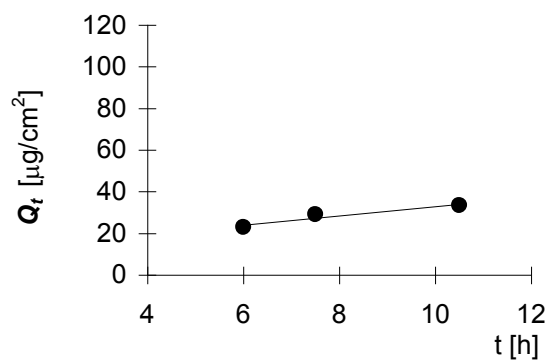
Donor: 5% SK

Měření: S 2

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,134	0,8	0,134	22,9	22,9
7,5	0,165	0,8	0,171	29,0	29,0
9	0,000	0,8	0,008	1,4	1,4
10,5	0,196	0	0,197	33,4	33,4

$t$	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	22,9	22,9
7,5	29,0	29,0
10,5	33,4	33,4

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 2,220643$
Abs. člen	$q = 10,67384$
Korelační koef.	$r = 0,958432$



## Protokol S 3

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,6$

Kůže: 24/2008

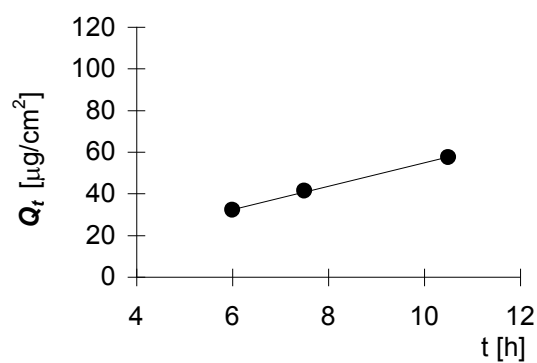
Donor: 5% SK

Měření: S 3

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,194	0,8	0,194	32,1	32,1
7,5	0,241	0,8	0,250	41,5	41,5
9	0,000	0,8	0,012	2,0	2,0
10,5	0,345	0	0,346	57,4	57,4

$t$	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	32,1	32,5
7,5	41,5	40,9
10,5	57,4	57,6

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 5,583833$
Abs. člen	$q = -0,98922$
Korelační koef.	$r = 0,999185$



## Protokol S 4

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,6$

Kůže: 24/2008

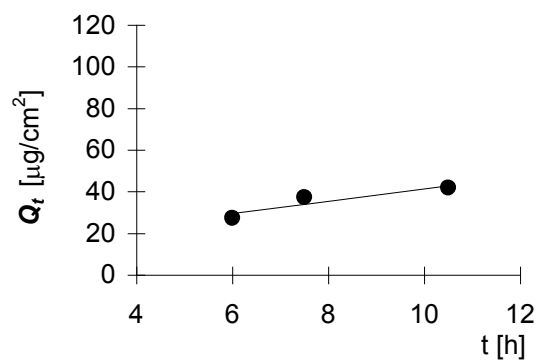
Donor: 5% SK

Měření: S 4

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,165	0,8	0,165	27,4	27,4
7,5	0,216	0,8	0,224	37,2	37,2
9	0,138	0,8	0,149	24,7	24,7
10,5	0,245	0	0,252	41,9	41,9

$t$	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	27,4	29,5
7,5	37,2	34,0
10,5	41,9	42,9

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 2,980015$
Abs. člen	$q = 11,65478$
Korelační koef.	$r = 0,922543$



## Protokol S 5

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 19$

Kůže: 24/2008

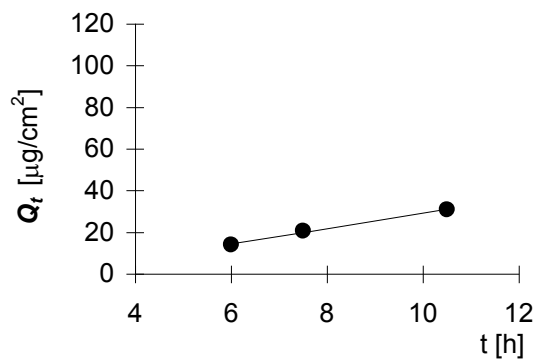
Donor: 5% SK

Měření: S 5

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,074	0,8	0,074	14,0	14,0
7,5	0,106	0,8	0,109	20,7	20,7
9	0,131	0,8	0,136	25,8	25,8
10,5	0,157	0	0,163	30,9	30,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	14,0	14,4
7,5	20,7	20,0
10,5	30,9	31,1

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 3,713484$
Abs. člen	$q = -7,85355$
Korelační koef.	$r = 0,997503$





## Protokol S 6

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,6$

Kůže: 24/2008

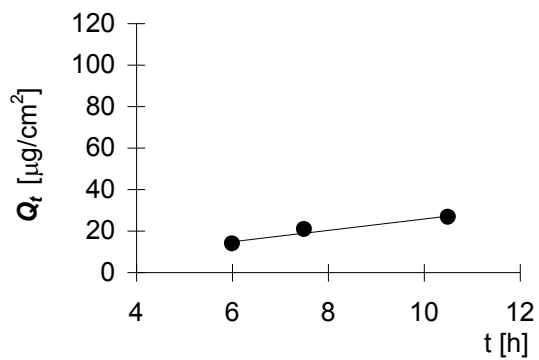
Donor: 5% SK

Měření: S 6

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,083	0,8	0,083	13,7	13,7
7,5	0,121	0,8	0,125	20,7	20,7
9	0,027	0,8	0,033	5,6	5,6
10,5	0,159	0	0,161	26,7	26,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	13,7	14,9
7,5	20,7	19,0
10,5	26,7	27,3

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 2,755768$
Abs. člen	$q = -1,67744$
Korelační koef.	$r = 0,972684$



## Protokol S 7

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,8$

Kůže: 24/2008

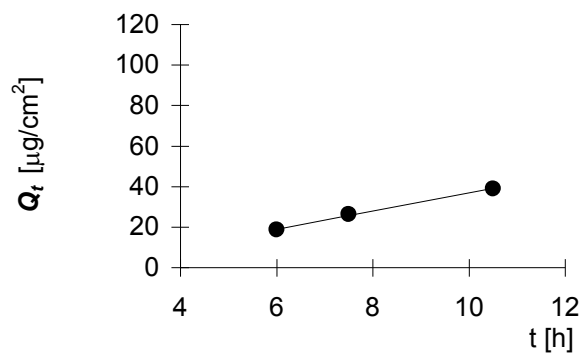
Donor: 5% SK

Měření: S 7

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,099	0,8	0,099	18,7	18,7
7,5	0,135	0,8	0,139	26,2	26,2
9	0,169	0,8	0,175	32,9	32,9
10,5	0,199	0	0,207	38,9	38,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	18,7	19,0
7,5	26,2	25,7
10,5	38,9	39,1

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 4,452117$
Abs. člen	$q = -7,68884$
Korelační koef.	$r = 0,999088$



## Protokol S 8

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,8$

Kůže: 24/2008

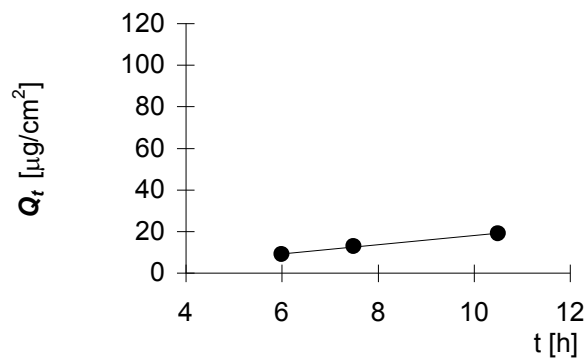
Donor: 5% SK

Měření: S 8

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,053	0,8	0,053	8,9	8,9
7,5	0,074	0,8	0,077	12,9	12,9
9	0,043	0,8	0,046	7,8	7,8
10,5	0,111	0	0,113	18,9	18,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	8,9	9,2
7,5	12,9	12,5
10,5	18,9	19,1

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 2,193417$
Abs. člen	$q = -3,9549$
Korelační koef.	$r = 0,997697$



# Protokol

# S 9

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 19,2$

Kůže: 24/2008

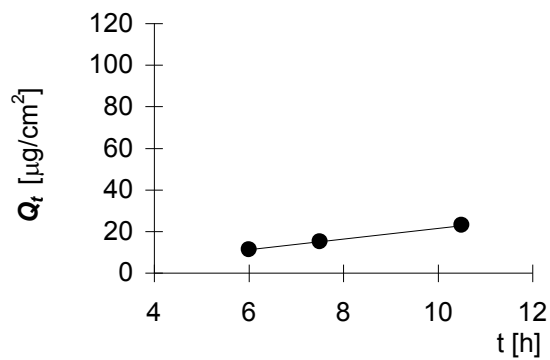
Donor: 5% SK

Měření: S 9

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,059	0,8	0,059	11,3	11,3
7,5	0,076	0,8	0,078	15,0	15,0
9	0,086	0,8	0,090	17,2	17,2
10,5	0,116	0	0,119	22,9	22,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	11,3	11,2
7,5	15,0	15,1
10,5	22,9	22,9

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 2,593747$
Abs. člen	$q = -4,34191$
Korelační koef.	$r = 0,999811$



## Protokol S 10

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17$

Kůže: 24/2008

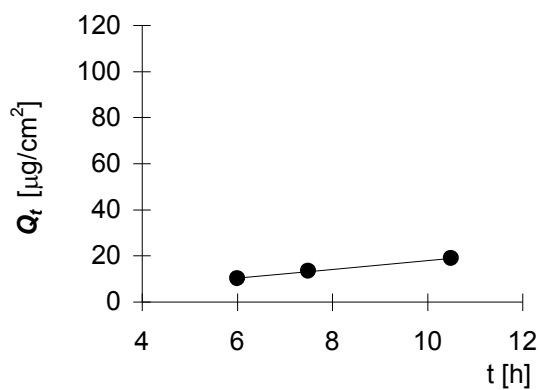
Donor: 5% SK

Měření: S 10

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,060	0,8	0,060	10,2	10,2
7,5	0,076	0,8	0,079	13,4	13,4
9	0,047	0,8	0,051	8,6	8,6
10,5	0,109	0	0,111	18,9	18,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	10,2	10,3
7,5	13,4	13,2
10,5	18,9	19,0

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 1,934164$
Abs. člen	$q = -1,30875$
Korelační koef.	$r = 0,999339$



## Protokol S 11

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,8$

Kůže: 24/2008

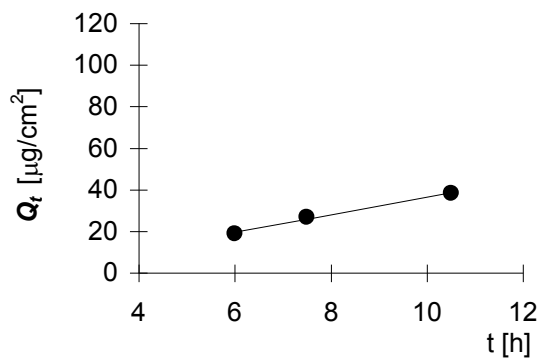
Donor: 5% SK

Měření: S 11

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,112	0,8	0,112	18,9	18,9
7,5	0,155	0,8	0,160	27,0	27,0
9	0,113	0,8	0,120	20,2	20,2
10,5	0,222	0	0,228	38,3	38,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	18,9	19,6
7,5	27,0	25,9
10,5	38,3	38,6

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 4,228583$
Abs. člen	$q = -5,79233$
Korelační koef.	$r = 0,995593$



## Protokol S 12

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17$

Kůže: 24/2008

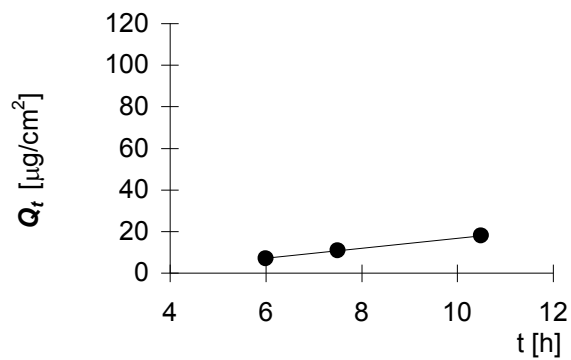
Donor: 5% SK

Měření: S 12

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,041	0,8	0,041	7,0	7,0
7,5	0,061	0,8	0,063	10,8	10,8
9	0,068	0,8	0,071	12,1	12,1
10,5	0,102	0	0,106	18,0	18,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	7,0	7,1
7,5	10,8	10,7
10,5	18,0	18,0

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 2,433452$
Abs. člen	$q = -7,5421$
Korelační koef.	$r = 0,999928$



## Protokol S 13

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 19,4$

Kůže: 15/2008

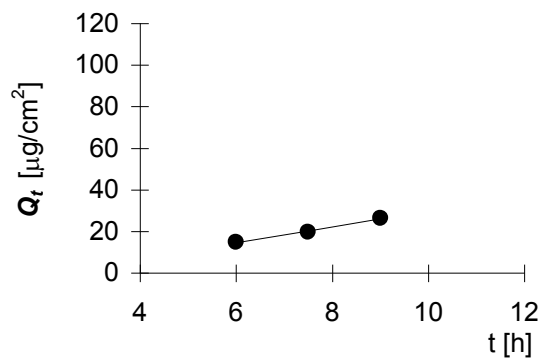
Donor: 5% SK

Měření: S 13

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,077	0,8	0,077	14,9	14,9
7,5	0,099	0,8	0,102	19,8	19,8
9	0,131	0,8	0,135	26,2	26,2
10,5	0,204	0	0,209	40,6	40,6

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	14,9	14,6
7,5	19,8	20,3
9	26,2	26,0

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 3,784197
Abs. člen	q = -8,0792
Korelační koef.	r = 0,996932





# **Protokol S 14**

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 19,2$

Kůže: 15/2008

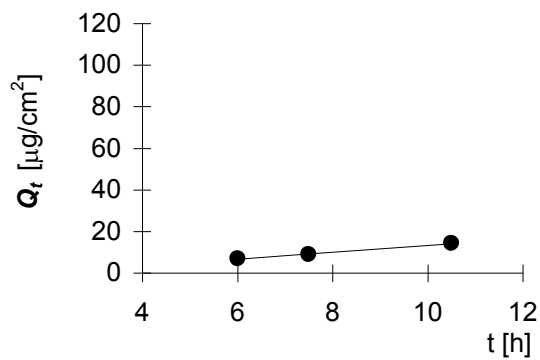
Donor: 5% SK

Měření: S 14

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,036	0,8	0,036	6,9	6,9
7,5	0,046	0,8	0,047	9,0	9,0
9	0,053	0,8	0,055	10,6	10,6
10,5	0,072	0	0,074	14,2	14,2

$t$	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	6,9	6,8
7,5	9,0	9,2
10,5	14,2	14,2

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 1,646745$
Abs. člen	$q = -3,12526$
Korelační koef.	$r = 0,999002$



## Protokol S 15

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,6$

Kůže: 15/2008

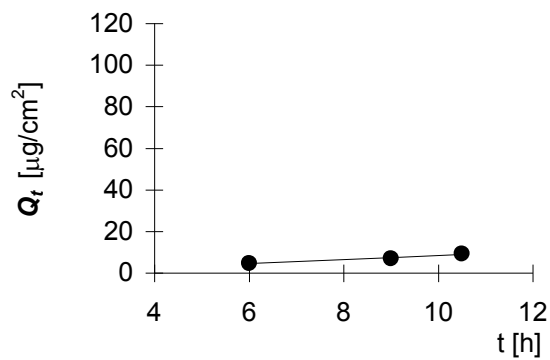
Donor: 5% SK

Měření: S 15

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,025	0,8	0,025	4,7	4,7
7,5	0,025	0,8	0,027	4,9	4,9
9	0,036	0,8	0,037	6,9	6,9
10,5	0,048	0	0,049	9,2	9,2

$t$	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	4,7	4,5
9	6,9	7,4
10,5	9,2	8,9

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 0,972696$
Abs. člen	$q = -1,3548$
Korelační koef.	$r = 0,979731$



## Protokol S 16

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17$

Kůže: 15/2008

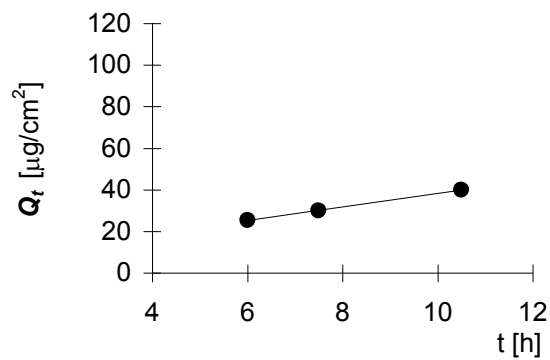
Donor: 5% SK

Měření: S 16

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
6	0,150	0,8	0,150	25,4	25,4
7,5	0,170	0,8	0,177	30,1	30,1
9	0,166	0,8	0,174	29,6	29,6
10,5	0,227	0	0,235	40,0	40,0

$t$	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
6	25,4	25,3
7,5	30,1	30,2
10,5	40,0	39,9

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 3,240517$
Abs. člen	$q = 5,89671$
Korelační koef.	$r = 0,999849$



## Protokol P 1

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17$

Kůže: 24/2008

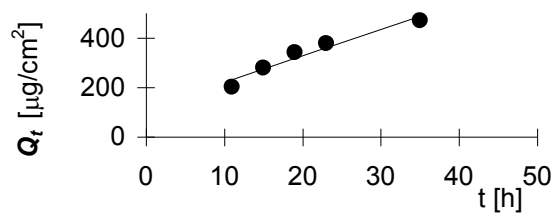
Donor: K A:I 8:2

Měření: P 1

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	1,189	0,8	1,189	202,2	202,2
15	1,596	0,8	1,652	280,9	280,9
19	1,937	0,8	2,015	342,5	342,5
23	2,136	0,8	2,231	379,3	379,3
35	2,670	0,8	2,775	471,8	471,8
39	2,577	0,8	2,707	460,3	460,3
43	2,503	0,8	2,631	447,2	447,2
47	2,525	0,8	2,649	450,3	450,3
59	2,681	0	2,806	477,0	477,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11	202,2	232,3
15	280,9	275,2
19	342,5	318,2
23	379,3	361,1
35	471,8	490,0

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 10,73713
Abs. člen	q = 114,162
Korelační koef.	r = 0,973119



## Protokol P 2

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17$

Kůže: 24/2008

Donor: K A:I 8:2

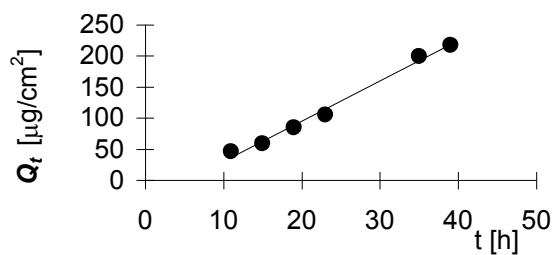
Měření: P 2

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,272	0,8	0,272	46,2	46,2
15	0,337	0,8	0,350	59,4	59,4
19	0,480	0,8	0,496	84,4	84,4
23	0,597	0,8	0,621	105,5	105,5
35	1,145	0,8	1,174	199,7	199,7
39	1,224	0,8	1,279	217,4	217,4
43	1,268	0,8	1,328	225,8	225,8
47	1,259	0,8	1,321	224,6	224,6
59	1,440	0	1,502	255,4	255,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11	46,2	46,2
15	59,4	59,4
19	84,4	84,4
23	105,5	105,5
35	199,7	199,7
39	217,4	217,4

### Parametry regrese

Počet bodů	n = 6
Flux	J = 6,490062
Abs. člen	q = -34,8241
Korelační koef.	r = 0,995198



## Protokol P 3

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,2$

Kůže: 24/2008

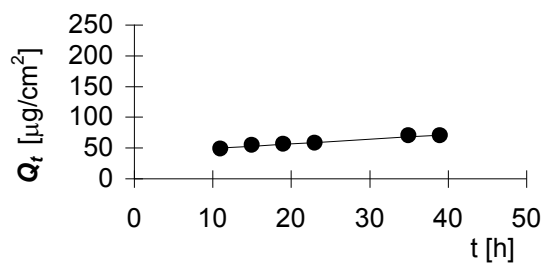
Donor: K A:I 8:2

Měření: P 3

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,283	0,8	0,283	48,7	48,7
15	0,305	0,8	0,318	54,7	54,7
19	0,311	0,8	0,326	56,1	56,1
23	0,323	0,8	0,338	58,1	58,1
35	0,392	0,8	0,408	70,1	70,1
39	0,386	0,8	0,405	69,7	69,7
43	0,389	0,8	0,407	70,1	70,1
47	0,384	0,8	0,403	69,4	69,4
59	0,395	0	0,414	71,1	71,1

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11	48,7	50,0
15	54,7	53,0
19	56,1	56,0
23	58,1	59,1
35	70,1	68,2
39	69,7	71,2

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,758997
Abs. člen	q = 41,61363
Korelační koef.	r = 0,984438



## Protokol P 4

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,6$

Kůže: 24/2008

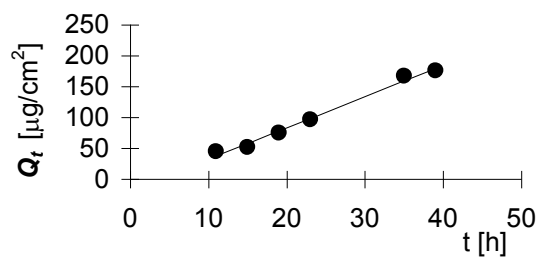
Donor: K A:I 8:2

Měření: P 4

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,272	0,8	0,272	45,1	45,1
15	0,301	0,8	0,314	52,1	52,1
19	0,435	0,8	0,450	74,8	74,8
23	0,559	0,8	0,580	96,3	96,3
35	0,977	0,8	1,005	166,9	166,9
39	1,011	0,8	1,060	175,9	175,9
43	1,041	0,8	1,092	181,3	181,3
47	1,083	0,8	1,136	188,6	188,6
59	1,218	0	1,272	211,2	211,2

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11	45,1	37,6
15	52,1	57,9
19	74,8	78,2
23	96,3	98,5
35	166,9	159,4
39	175,9	179,7

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 5,073949
Abs. člen	q = -18,2201
Korelační koef.	r = 0,994512



## Protokol P 5

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,3$

Kůže: 24/2008

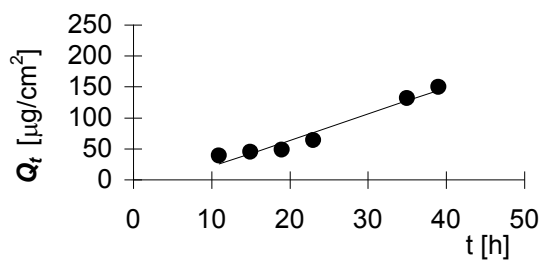
Donor: K A:I 8:2

Měření: P 5

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,211	0,8	0,211	38,6	38,6
15	0,234	0,8	0,243	44,5	44,5
19	0,251	0,8	0,262	48,0	48,0
23	0,336	0,8	0,347	63,6	63,6
35	0,704	0,8	0,719	131,6	131,6
39	0,786	0,8	0,818	149,7	149,7
43	0,854	0,8	0,890	162,9	162,9
47	0,926	0,8	0,965	176,6	176,6
59	1,100	0	1,142	209,0	209,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11	38,6	25,4
15	44,5	42,4
19	48,0	59,4
23	63,6	76,5
35	131,6	127,6
39	149,7	144,6

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 4,259607
Abs. člen	q = -21,5036
Korelační koef.	r = 0,977791





## Protokol P 6

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,6$

Kůže: 24/2008

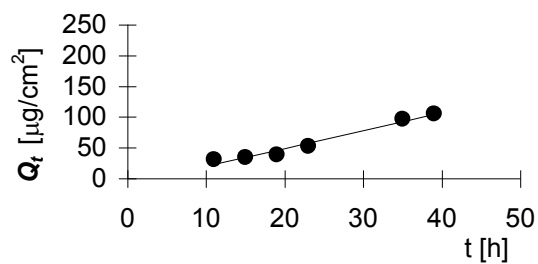
Donor: K A:I 8:2

Měření: P 6

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,166	0,8	0,166	30,9	30,9
15	0,180	0,8	0,187	34,8	34,8
19	0,200	0,8	0,208	38,7	38,7
23	0,273	0,8	0,282	52,4	52,4
35	0,509	0,8	0,521	96,9	96,9
39	0,543	0,8	0,566	105,2	105,2
43	0,577	0,8	0,602	111,9	111,9
47	0,609	0,8	0,634	118,0	118,0
59	0,697	0	0,724	134,7	134,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11	30,9	23,0
15	34,8	34,7
19	38,7	46,3
23	52,4	57,9
35	96,9	92,7
39	105,2	104,3

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 2,902723
Abs. člen	q = -8,88635
Korelační koef.	r = 0,984405



## Protokol P 7

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,6$

Kůže: 24/2008

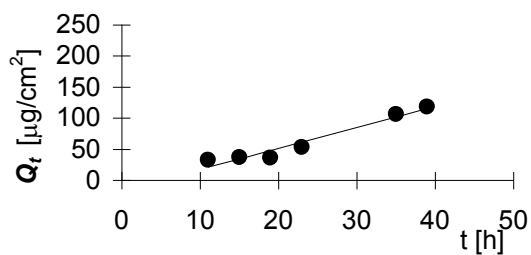
Donor: K A:I 8:2

Měření: P 7

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,174	0,8	0,174	32,4	32,4
15	0,188	0,8	0,196	36,4	36,4
19	0,186	0,8	0,194	36,2	36,2
23	0,277	0,8	0,286	53,2	53,2
35	0,561	0,8	0,573	106,6	106,6
39	0,610	0,8	0,634	118,0	118,0
43	0,647	0,8	0,675	125,5	125,5
47	0,684	0,8	0,713	132,7	132,7
59	0,778	0	0,808	150,3	150,3

$t$	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11	32,4	21,2
15	36,4	34,7
19	36,2	48,1
23	53,2	61,5
35	106,6	101,8
39	118,0	115,3

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 6$
Flux	$J = 3,358572$
Abs. člen	$q = -15,7168$
Korelační koef.	$r = 0,974659$



## Protokol P 8

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,6$

Kůže: 24/2008

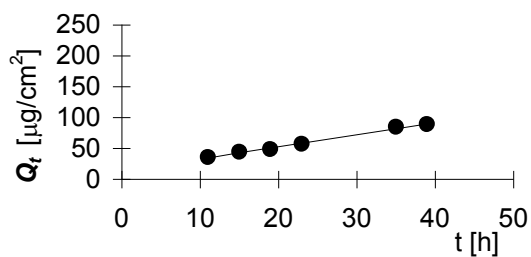
Donor: K A:I 8:2

Měření: P 8

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,214	0,8	0,214	35,6	35,6
15	0,256	0,8	0,267	44,3	44,3
19	0,278	0,8	0,291	48,2	48,2
23	0,330	0,8	0,344	57,2	57,2
35	0,492	0,8	0,509	84,4	84,4
39	0,512	0,8	0,536	89,0	89,0
43	0,530	0,8	0,556	92,3	92,3
47	0,563	0,8	0,590	98,0	98,0
59	0,715	0	0,743	123,4	123,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11	35,6	34,8
15	44,3	42,7
19	48,2	50,6
23	57,2	58,5
35	84,4	82,1
39	89,0	90,0

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 1,969374
Abs. člen	q = 13,17871
Korelační koef.	r = 0,996551



## Protokol P 9

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,6$

Kůže: 24/2008

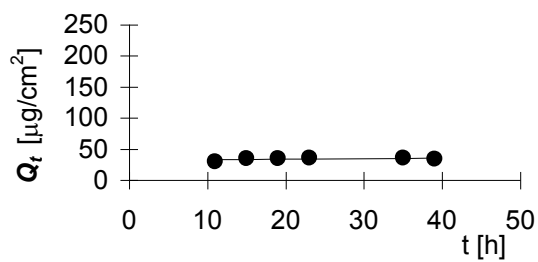
Donor: K A:I 8:2

Měření: P 9

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,161	0,8	0,161	30,0	30,0
15	0,181	0,8	0,188	34,9	34,9
19	0,180	0,8	0,188	35,0	35,0
23	0,185	0,8	0,193	36,0	36,0
35	0,184	0,8	0,193	35,9	35,9
39	0,176	0,8	0,184	34,3	34,3
43	0,168	0,8	0,176	32,8	32,8
47	0,162	0,8	0,169	31,5	31,5
59	0,158	0	0,165	30,7	30,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11	30,0	33,1
15	34,9	33,5
19	35,0	33,9
23	36,0	34,3
35	35,9	35,5
39	34,3	35,9

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,100143
Abs. člen	q = 31,97407
Korelační koef.	r = 0,50517



## Protokol P 10

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,8$

Kůže: 24/2008

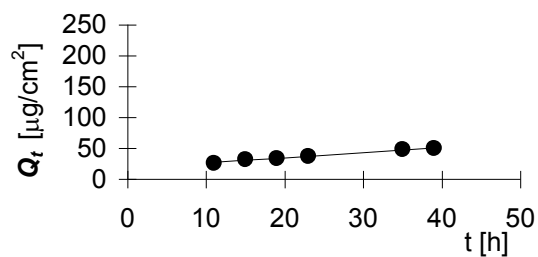
Donor: K A:I 8:2

Měření: P 10

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,156	0,8	0,156	26,2	26,2
15	0,184	0,8	0,191	32,1	32,1
19	0,192	0,8	0,201	33,8	33,8
23	0,212	0,8	0,222	37,2	37,2
35	0,279	0,8	0,289	48,6	48,6
39	0,282	0,8	0,295	49,6	49,6
43	0,287	0,8	0,301	50,6	50,6
47	0,300	0,8	0,314	52,8	52,8
59	0,371	0	0,386	64,9	64,9

$t$	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11	26,2	27,3
15	32,1	30,7
19	33,8	34,0
23	37,2	37,4
35	48,6	47,4
39	49,6	50,8

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 6$
Flux	$J = 0,836804$
Abs. člen	$q = 18,12267$
Korelační koef.	$r = 0,993066$



## Protokol P 11

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,6$

Kůže: 24/2008

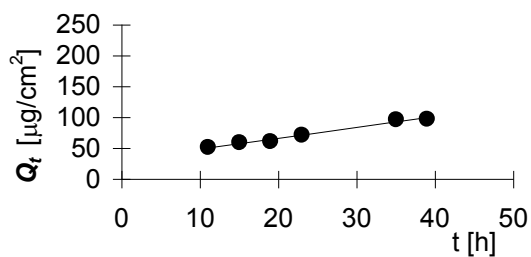
Donor: K A:I 8:2

Měření: P 11

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,310	0,8	0,310	51,4	51,4
15	0,345	0,8	0,360	59,8	59,8
19	0,350	0,8	0,367	60,9	60,9
23	0,414	0,8	0,432	71,7	71,7
35	0,560	0,8	0,581	96,4	96,4
39	0,559	0,8	0,587	97,5	97,5
43	0,558	0,8	0,587	97,4	97,4
47	0,569	0,8	0,597	99,2	99,2
59	0,605	0	0,634	105,3	105,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11	51,4	50,8
15	59,8	57,8
19	60,9	64,8
23	71,7	71,8
35	96,4	92,8
39	97,5	99,7

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 1,747449
Abs. člen	q = 31,59071
Korelační koef.	r = 0,990207



## Protokol P 12

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17$

Kůže: 24/2008

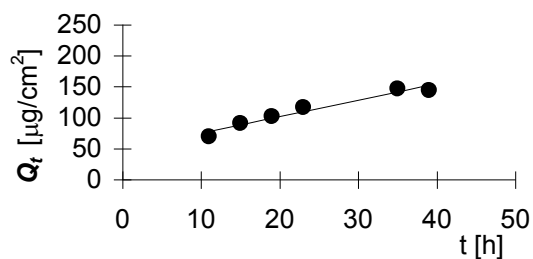
Donor: K A:I 8:2

Měření: P 12

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,409	0,8	0,409	69,5	69,5
15	0,516	0,8	0,535	90,9	90,9
19	0,579	0,8	0,604	102,6	102,6
23	0,659	0,8	0,688	116,9	116,9
35	0,830	0,8	0,862	146,6	146,6
39	0,811	0,8	0,851	144,7	144,7
43	0,800	0,8	0,840	142,9	142,9
47	0,802	0,8	0,842	143,1	143,1
59	0,845	0	0,884	150,4	150,4

$t$	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11	69,5	78,1
15	90,9	88,8
19	102,6	99,4
23	116,9	110,1
35	146,6	142,1
39	144,7	152,8

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 6$
Flux	$J = 2,666173$
Abs. člen	$q = 48,77792$
Korelační koef.	$r = 0,975903$



## Protokol P 13

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,3$

Kůže: 15/2008

Donor: K A:I 8:2

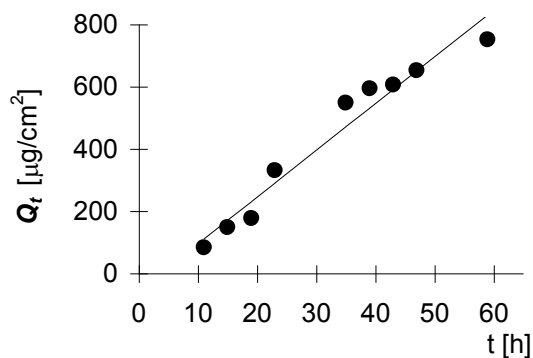
Měření: P 13

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,459	0,8	0,459	84,0	84,0
15	0,795	0,8	0,815	149,1	149,1
19	0,932	0,8	0,968	177,1	177,1
23	1,771	0,8	1,814	331,9	331,9
35	2,920	0,8	2,999	548,8	548,8
39	3,121	0,8	3,252	595,2	595,2
43	3,172	0,8	3,314	606,5	606,5
47	3,422	0,8	3,567	652,8	652,8
59	3,950	0	4,106	751,5	751,5

$t$	$Q_t(\text{exp})$	$Q_t(\text{teor})$
11	84,0	113,0
15	149,1	173,0
19	177,1	233,0
23	331,9	293,0
35	548,8	473,0
39	595,2	533,0
43	606,5	593,0
47	652,8	653,0
59	751,5	833,0

### Parametry regrese

Počet bodů	$n = 9$
Flux	$J = 14,99881$
Abs. člen	$q = -51,9681$
Korelační koef.	$r = 0,977142$





## Protokol P 14

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,5$

Kůže: 15/2008

Donor: K A:I 8:2

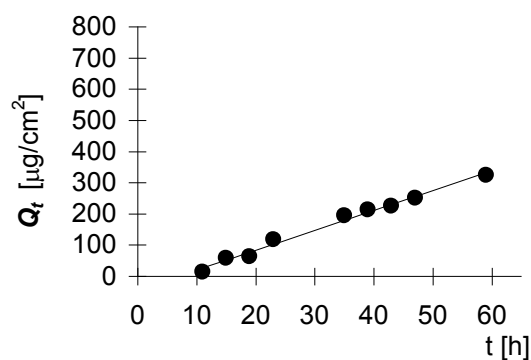
Měření: P 14

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,074	0,8	0,074	13,8	13,8
15	0,311	0,8	0,314	58,2	58,2
19	0,324	0,8	0,337	62,4	62,4
23	0,623	0,8	0,638	118,0	118,0
35	1,023	0,8	1,051	194,4	194,4
39	1,107	0,8	1,152	213,2	213,2
43	1,168	0,8	1,218	225,3	225,3
47	1,302	0,8	1,355	250,6	250,6
59	1,697	0	1,755	324,7	324,7

$t$	$Q_t(\text{exp})$	$Q_t(\text{teor})$
11	13,8	26,5
15	58,2	52,0
19	62,4	77,4
23	118,0	102,9
35	194,4	179,3
39	213,2	204,7
43	225,3	230,2
47	250,6	255,6
59	324,7	332,0

### Parametry regrese

Počet bodů	$n = 9$
Flux	$J = 6,364881$
Abs. člen	$q = -43,5117$
Korelační koef.	$r = 0,993882$



## Protokol P 15

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,7$

Kůže: 15/2008

Donor: K A:I 8:2

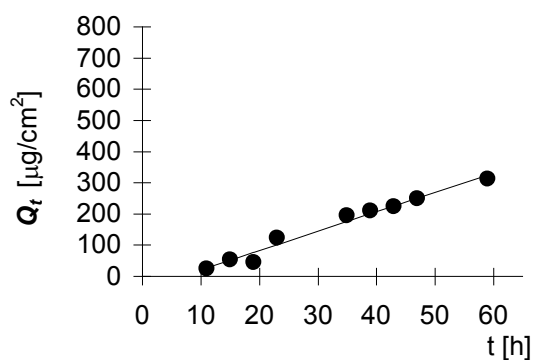
Měření: P 15

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,125	0,8	0,125	23,4	23,4
15	0,279	0,8	0,284	53,2	53,2
19	0,227	0,8	0,239	44,7	44,7
23	0,649	0,8	0,659	123,3	123,3
35	1,008	0,8	1,036	193,8	193,8
39	1,082	0,8	1,126	210,6	210,6
43	1,143	0,8	1,191	222,7	222,7
47	1,278	0,8	1,329	248,5	248,5
59	1,611	0	1,668	311,9	311,9

t	$Q_t(\text{exp})$	$Q_t(\text{teor})$
11	23,4	26,9
15	53,2	51,7
19	44,7	76,5
23	123,3	101,3
35	193,8	175,7
39	210,6	200,5
43	222,7	225,2
47	248,5	250,0
59	311,9	324,4

### Parametry regrese

Počet bodů	$n = 9$
Flux	$J = 6,198151$
Abs. člen	$q = -41,2759$
Korelační koef.	$r = 0,987259$



## Protokol P 16

$V_o$	[ml]
$t$	[h]
$C_{nk}$	[mg/100ml]
$\Delta V_{dop}$	[ml]
$C_k$	[mg/100ml]
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o$
$Q_t$	[ $\mu$ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,1$

Kůže: 15/2008

Donor: K A:I 8:2

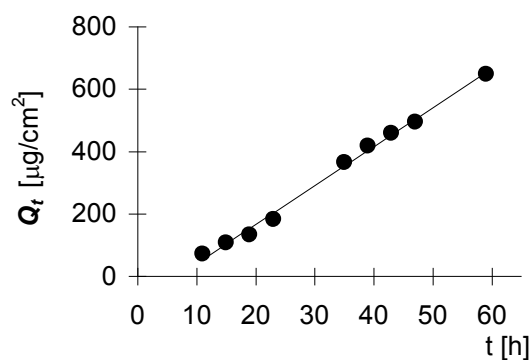
Měření: P 16

$t$	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
11	0,416	0,8	0,416	71,1	71,1
15	0,609	0,8	0,628	107,4	107,4
19	0,745	0,8	0,774	132,4	132,4
23	1,033	0,8	1,069	182,8	182,8
35	2,085	0,8	2,135	365,0	365,0
39	2,347	0,8	2,447	418,5	418,5
43	2,574	0,8	2,688	459,7	459,7
47	2,768	0,8	2,894	494,9	494,9
59	3,657	0	3,792	648,4	648,4

$t$	$Q_t(\text{exp})$	$Q_t(\text{teor})$
11	71,1	53,7
15	107,4	103,6
19	132,4	153,6
23	182,8	203,5
35	365,0	353,3
39	418,5	403,3
43	459,7	453,2
47	494,9	503,1
59	648,4	652,9

### Parametry regrese

Počet bodů	$n = 9$
Flux	$J = 12,48403$
Abs. člen	$q = -83,6247$
Korelační koef.	$r = 0,997434$



## 6. VÝSLEDKY A DISKUZE

### 6.1 Tahové zkoušky

Tabulky a grafy v **protokolech č.1 až č.12** v části **5. DOKUMENTACE** obsahují neupravená data tak, jak je poskytl použitý software. Grafy v sobě zahrnují jinou prezentaci dat než tabulky. Graf totiž vždy poskytuje záznam závislosti síla-deformace, který je v tabulce navíc doplněn o příslušné hodnoty napětí. Získaná data byla programem statisticky zpracována pomocí průměrů a směrodatných odchylek.

Data získaná softwarem tenzometru byla doplněna o údaj  **$\sigma F_{norm}$** , který umožňuje srovnání jednotlivých vzorků.

Jedná se o normalizované napětí  **$\sigma F_{norm}$** , tedy napětí při maximální síle vztažené na plošnou hmotnost, gramáž membrány. Údaj v sobě zahrnuje také informaci o ploše průřezu vzorku. Na tomto základě bylo normalizované napětí  **$\sigma F_{norm}$**  vybráno jako údaj umožňující nejvýstižnější srovnání vzorků a byl upřednostněn před maximální silou  **$F_{max}$**  nebo napětím při maximální síle  **$\sigma F_{max}$** .

Hodnota normalizovaného napětí  **$\sigma F_{norm}$**  byla vypočtena dle následujícího vztahu:

$$\sigma F_{norm} = \sigma F_{max} / \text{gramáž}$$

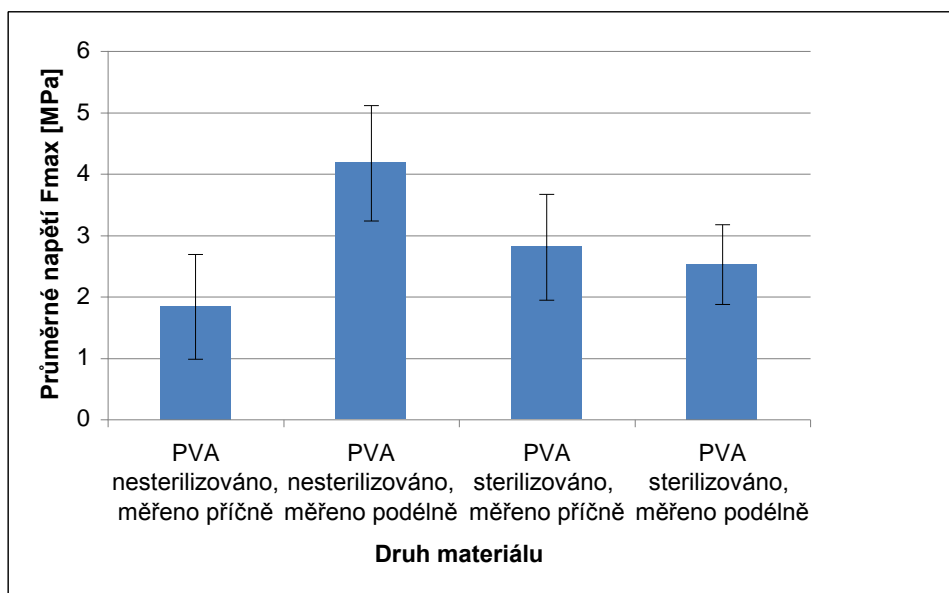
K hodnocení vzorků byly použity průměrné hodnoty  **$\sigma F_{norm}$** . Pro každý materiál jsou uvedeny v následujících **tabulkách 7 až 9** konkrétní průměrné hodnoty normalizovaného napětí  **$\sigma F_{norm}$**  a napětí při maximální síle  **$\sigma F_{max}$** , hodnoty jsou také zpracovány na **grafech 2 až 7** a slovně komentovány.

## Výsledky: PVA

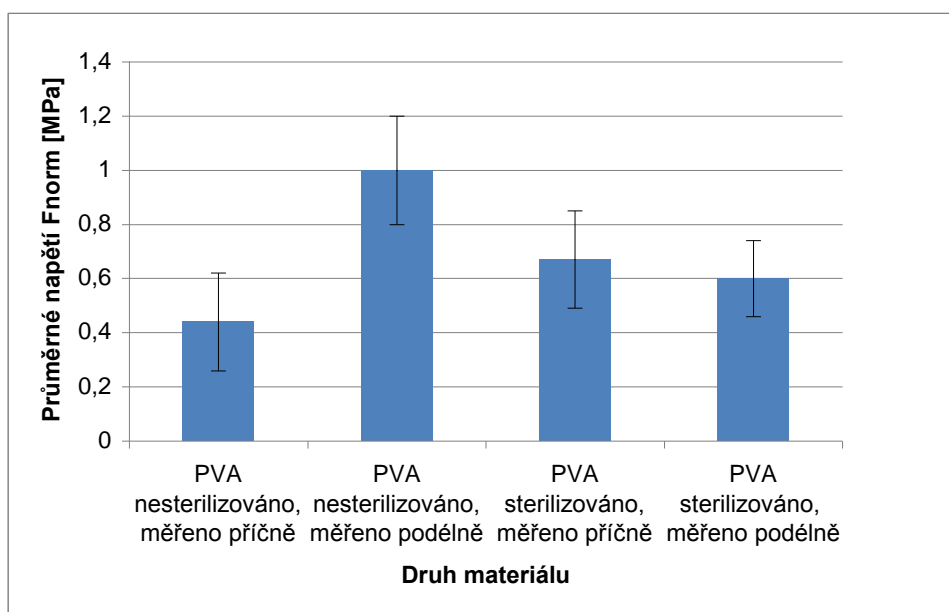
polymer	gramáž	$\sigma F_{max}$ MPa		$\sigma F_{norm}$ MPa	
	g/m <sup>2</sup>	průměr	SD	průměr	SD
PVA nesterilizováno, měřeno příčně	4,20	1,84	0,85	0,44	0,18
PVA nesterilizováno, měřeno podélně	4,20	4,18	0,94	1,00	0,20
PVA sterilizováno, měřeno příčně	4,20	2,81	0,86	0,67	0,18
PVA sterilizováno, měřeno podélně	4,20	2,53	0,65	0,60	0,14

Tabulka 7: Výsledky tahových zkoušek netkaných membrán z PVA

Hodnoty v řadě sterilizované se liší nepatrně, pouze na druhém desetinném místě platných čísel. Na základě toho lze říct, že směr měření nemá v řadě sterilizované vliv na tahové vlastnosti. Hodnoty v řadě nesterilizované se liší podstatně více a můžeme říci, že ve směru podélném je materiál tahově pevnější. Při srovnání řady nesterilní s řadou sterilní je možné konstatovat, že ve směru podélném materiál sterilizací tahově zeslábl a ve směru příčném naopak zpevněl.



**Graf 2: Srovnání hodnot  $\sigma F_{max}$  tahových zkoušek membrán z PVA**



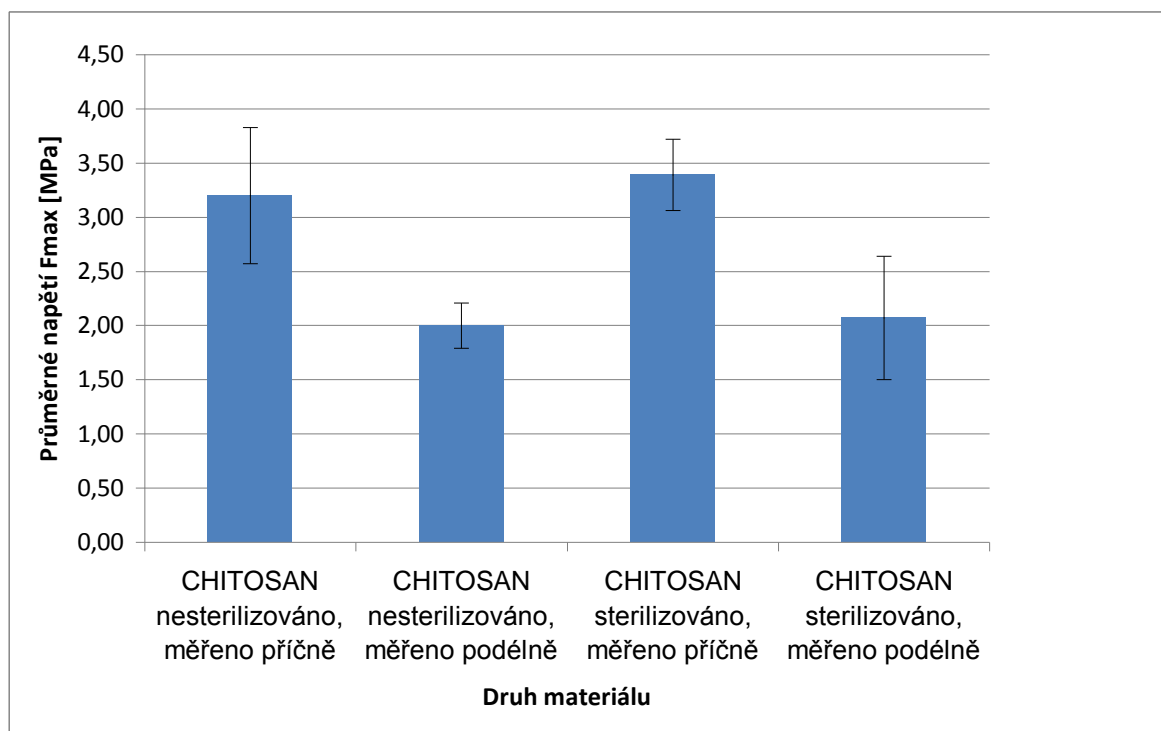
**Graf 3: Srovnání hodnot  $\sigma F_{norm}$  tahových zkoušek membrán z PVA**

## Výsledky: Chitosan

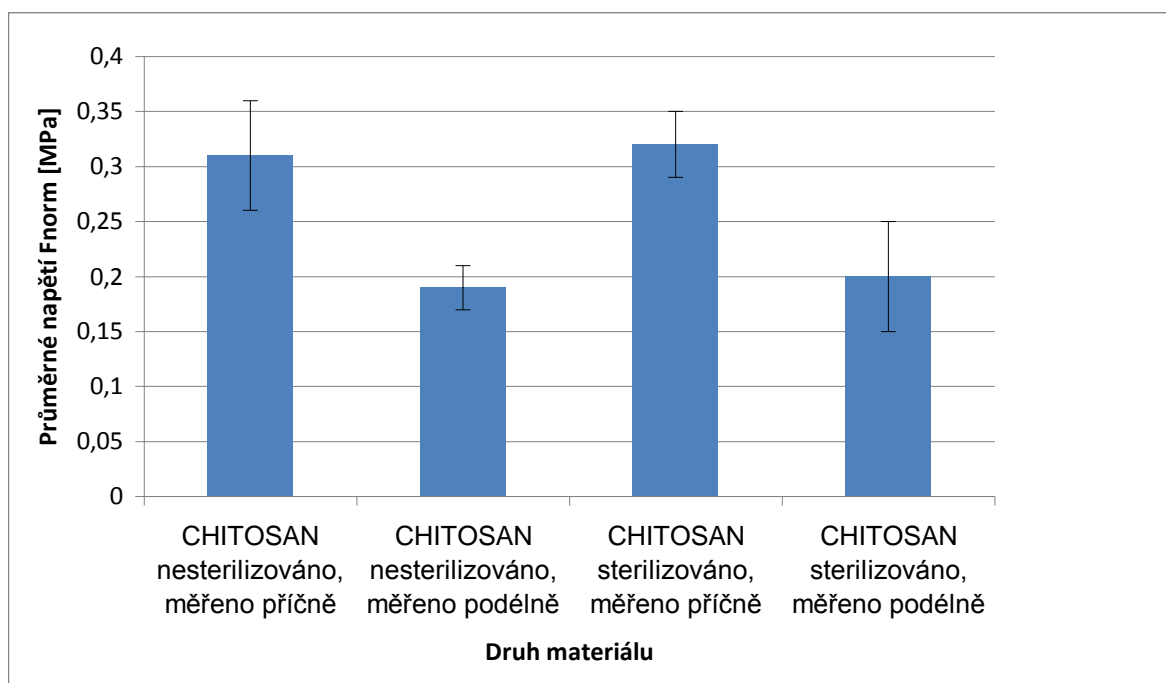
polymer	gramáž	$\sigma$ Fmax MPa		$\sigma$ Fnorm MPa	
	g/m <sup>2</sup>	průměr	SD	průměr	SD
CHITOSAN nesterilizováno, měřeno příčně	10,48	3,20	0,63	0,31	0,05
CHITOSAN nesterilizováno, měřeno podélně	10,48	2,00	0,21	0,19	0,02
CHITOSAN sterilizováno, měřeno příčně	10,48	3,39	0,33	0,32	0,03
CHITOSAN sterilizováno, měřeno podélně	10,48	2,07	0,57	0,20	0,05

Tabulka 8: Výsledky tahových zkoušek netkaných membrán z Chitosanu

Ve směru příčném byly naměřeny nepatrně vyšší hodnoty než ve směru podélném. Membrány řady nesterilizované a řady sterilizované se liší nepatrně a nelze jednoznačně říct, jestli jsou sterilizací ovlivněny. Rozdíly hodnot se dají označit za zanedbatelné a minimální tendence by se daly vysledovat při hodnocení směru měření, kdy směr příčný je tahově pevnější, a při hodnocení vlivu sterilizace, kdy řada sterilizovaná je tahově pevnější a materiál se tedy sterilizací zpevnil.



**Graf 4: Srovnání hodnot  $\sigma F_{max}$  tahových zkoušek membrán z Chitosanu**



**Graf 5: Srovnání hodnot  $\sigma F_{norm}$  tahových zkoušek membrán z Chitosanu**

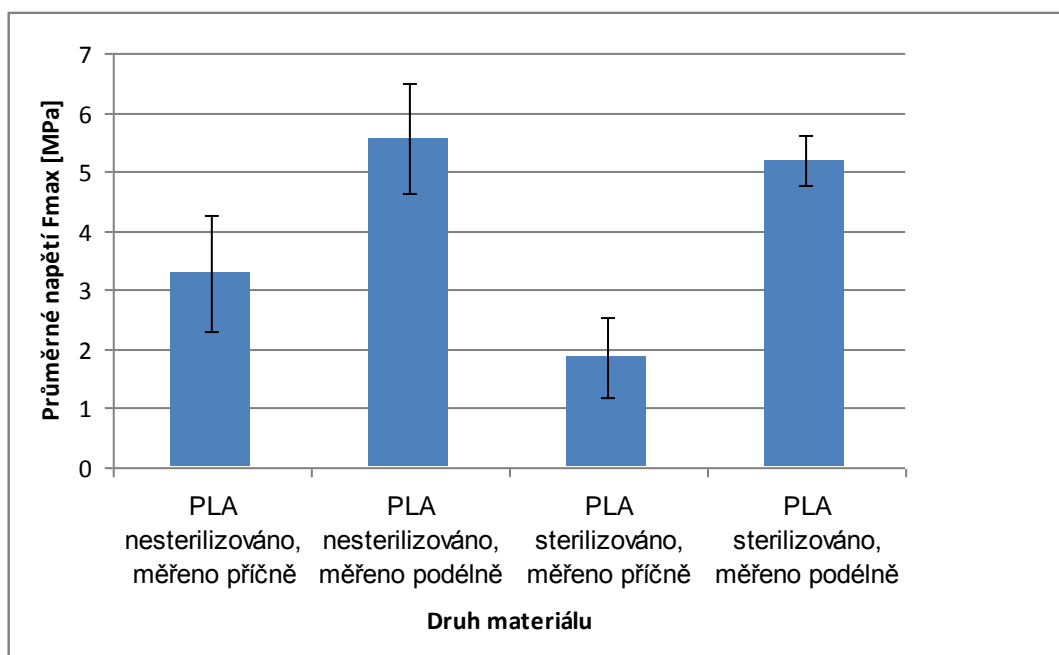


## Výsledky: PLA

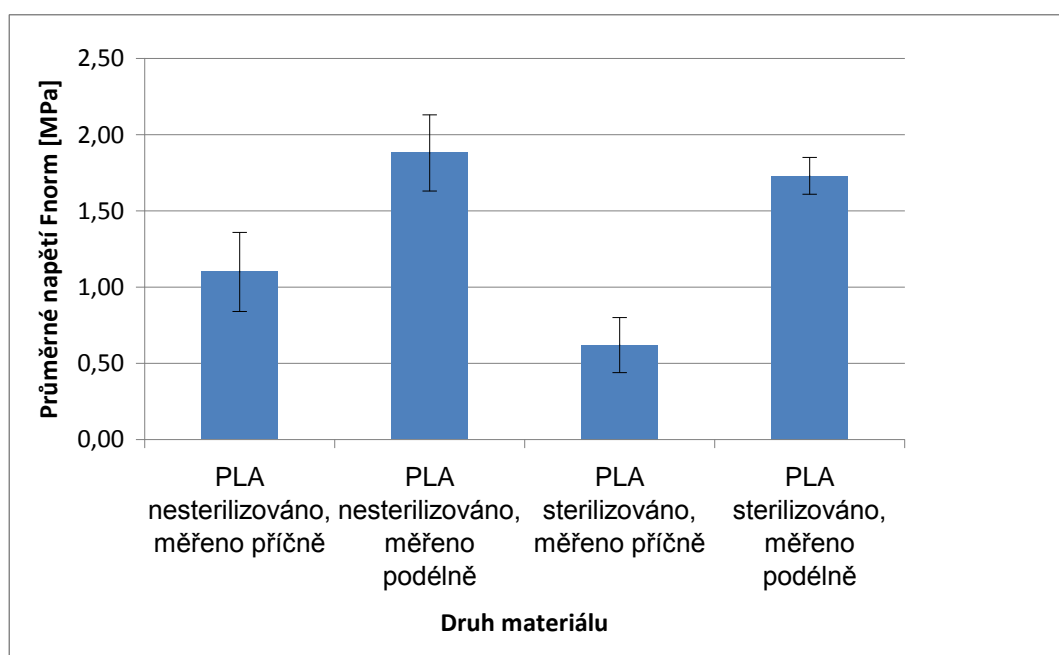
polymer	gramáž	$\sigma$ Fmax MPa		$\sigma$ Fnorm MPa	
	g/m <sup>2</sup>	průměr	SD	průměr	SD
PLA nesterilizováno, měřeno příčně	3,00	3,28	0,97	1,10	0,26
PLA nesterilizováno, měřeno podélně	3,00	5,56	0,93	1,88	0,25
PLA sterilizováno, měřeno příčně	3,00	1,86	0,66	0,62	0,18
PLA sterilizováno, měřeno podélně	3,00	5,18	0,42	1,73	0,12

Tabulka 9: Výsledky tahových zkoušek netkaných membrán z PLA

Hodnoty ve směru příčném byly naměřeny nižší než ve směru podélném a lze tedy říci, že materiál je ve směru podélném tahově pevnější. Hodnoty řady nesterilizované jsou vyšší než řady sterilizované a na základě toho můžeme usuzovat, že sterilizací materiál slábne.



**Graf 6: Srovnání hodnot  $\sigma_{Fmax}$  tahových zkoušek membrán z PLA**



**Graf 7: Srovnání hodnot  $\sigma_{Fnorm}$  tahových zkoušek membrán z PLA**

## 6.2 Smáčivost a kontaktní úhel

### 6.2.1 Smáčivost

Smáčivost byla hodnocena na základě vizuálního hodnocení s výsledkem typu: vehikulum se vsáklo/nevsáklo nebo na povrchu membrány se vytvořila/nevytvořila kapka.

Čištěná voda vždy vytvořila na povrchu membrány PVA, Chitosan, PLA kapku. Na základě tohoto faktu bylo nově potřeba zjistit hodnoty kontaktního úhlu při styku s hydrofilní kapalinou a získat tak další charakterizaci materiálu. Bylo nutné provést test kontaktu membrány s lipofilním vehikulem.

Testovací kapaliny IPM, tekutý parafín a roztavený AdS se do membrán PVA, Chitosan, PLA zcela vsákly a kapku neutvořily.

Na základě složení jednotlivých membrán bylo před testováním usuzováno na hydrofilní charakter vláknenného materiálu. Uvedenou zkouškou však jednoduché prvotní uvažování o hydrofilnosti povrchu nanovláknenné membrány bylo významně zpochybněno. Výsledky ukázaly, že povrchy membrán nelze považovat za celistvé, jsou ovlivněny jejich nanovláknennou strukturou a fyzikální nehomogenitou. Všechny membrány proto byly pro další pokusy pracovníčně považovány za vodoresistentní.

### 6.2.2 Kontaktní úhel

V nesterilizované řadě byly naměřeny vyšší hodnoty kontaktního úhlu než v řadě sterilizované. Membrány řady nesterilizované jsou tedy lipofilnější než materiály řady sterilizované. Na tomto základě možno říct, že sterilizace dodává membránám hydrofilnější charakter.

vzorek řady nesterilizované	kontaktní úhel $\Phi$	vzorek řady sterilizované	kontaktní úhel $\Phi$
PVA	75 °	PVA	61 °
Chitosan	66 °	Chitosan	60 °
PLA	68 °	PLA	57 °

Tabulka 10: Průměrné hodnoty kontaktního úhlu voda/membrána/vzduch

Při srovnání jednotlivých materiálů je membrána PVA, jak v řadě sterilizované tak v řadě nesterilizované, nejlipofilnější membránou ze všech tří zkoušených membrán. Nejvíce hydrofilní je v nesterilizované řadě membrána Chitosan a ve sterilizované řadě membrána PLA.

### 6.3 Nasákavost

Při konkrétní, vlastní modifikaci postupu zkoušky nasákavosti dochází k odstranění plynné fáze z rozhraní mezi polymerem a kapalinou v důsledku mechanického zatížení membrán potřebného pro jejich ponoření do kapalného prostředí fosforečnanového pufru. Membrána PVA je po takovém ponoření schopna pojmout a zadržet největší množství tekutiny ze všech tří zkoušených membrán. Nejméně kapaliny pojme a zadrží membrána Chitosan.

Na základě této zkoušky, která v principu informuje o kvalitativně jiné situaci než při stanovení rovnovážného kontaktního úhlu, lze konstatovat, že membrána PVA se jeví jako nejhydrofilnější a Chitosan jako nejlipofilnější z testovaných vzorků netkaných nanomembrán.

Jinými slovy je možné říct, že ačkoliv na základě měření kontaktního úhlu je nanoheterogenní povrch PVA membrány hodnocen jako vodoresistentnější, zkouškou na nasákavost zadrží největší množství pufru. Tento jev je zřejmě způsoben fyzikálními interakcemi vody uvnitř materiálu nanovlákněné membrány, kde působí nejen síly povrchové (vodíkové můstky, iontové síly i adsorpční síly hydrofobní, van der Waalsovy).

vzorek řady nesterilizované	hmotnost $m_1$ [g]	hmotnost $m_2$ [g]	rozdíl hmotností	průměr rozdílu hmotností
PVA	0,0321	0,2183	0,1861	0,1827
	0,0275	0,2068	0,1793	
Chitosan	0,0232	0,1275	0,1042	0,1064
	0,0229	0,1314	0,1085	
PLA	0,0283	0,1620	0,1337	0,1207
	0,0201	0,1279	0,1077	

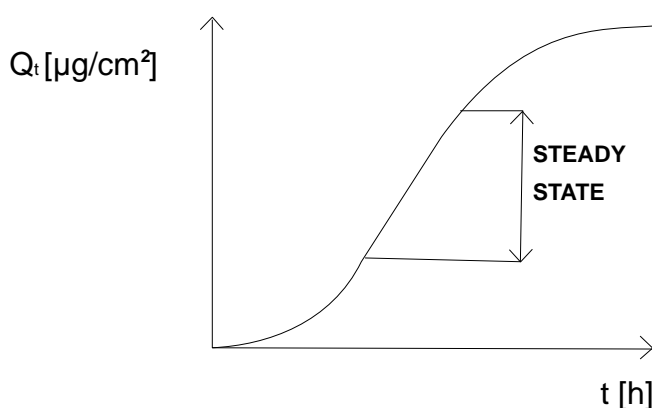
Tabulka 11: Hodnoty hmotnosti charakterizující nasákavost materiálu

**Vysvětlivky:** Hmotnost  $m_1$  .....hmotnost proužku (7 cm×2 cm) membrány před ponořením do pufru  
Hmotnost  $m_2$  .....hmotnost proužku (7 cm×2 cm) membrány po vykapání

## 6.4 Liberačně-permeační pokus

Hodnoty  $Q_t$  [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ] z permeačních pokusů uvedené v **protokolech S1 až S16 a protokolech P1 až P16** v části **5. DOKUMENTACE**, na základě kterých byl vytvořen graf závislosti  $Q_t$  [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ] na čase  $t$  [hod] byly selektovány jednak z důvodu jejich někdy velké variability s cílem odstranit tu největší chybnou hodnotu. Stejnou důležitost má nalezení úseku ustálené permeace, tedy lineární části uvedené závislosti. Eliminovány byly hodnoty, které nejvíce vybočovaly, zároveň nejvíce ovlivňovaly korelační koeficient a přitom nejméně ovlivňovaly hodnotu fluxu.

Při této selekci byl uplatněn systém pravidelnosti výskytu odlehlé hodnoty. Mohla být konkrétně spojena s nějakou technickou chybou v odběru vzorku z permeační buňky, jeho dávkování při HPLC, uvolnění nečistoty, krystalu z kolony. Tam, kde se nenalézala pravidelná chyba, se postupovalo tak, aby byly odstraněny hodnoty nalézající se mimo ustálený stav permeace. Ustálený stav, steady state označuje přímkovou část grafu závislosti  $Q_t$  [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ] na čase  $t$  [hod] a směrnice této části má význam fluxu  $J$  [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hod}$ ] (**Obr. 25**). Jedná se o periodu zhruba uprostřed permeace, kdy se neodehrávají žádné podstatné změny, a která nejvíce odpovídá mohutnosti permeace a nejlépe ji charakterizuje. Křivka grafu odpovídající hodnotám z počátku nebo z konce permeace je nereprezentativní a souvisí s jevy na počátku jako nástup permeace a postupné nasycení membrány. Část na konci křivky souvisí s projevy doby macerace kůže, ztrátou bariérových vlastností, případně i poklesu koncentračního spádu permeantu.



**Obr. 25: Ilustrativní průběh permeační křivky**

V případě úvodní periody standardizace za pomoci markeru byla eliminována vždy jedna ze čtyř naměřených hodnot, většinou přitom odpovídala třetímu odběru. Hodnota třetího odběru se totiž značně odchylovala od zbylých a tím, že se odchylka

opakovala téměř u všech měření, mohla být způsobena technickou chybou v oblasti autosampleru nebo pumpy, což mělo za následek špatné dávkování vzorku na kolonu.

V případě vlastní permeace byly eliminovány 3 až 4 naměřené hodnoty, obvykle odpovídaly počátečním nebo koncovým odběrům, většinou se jednalo o poslední tři odběry.

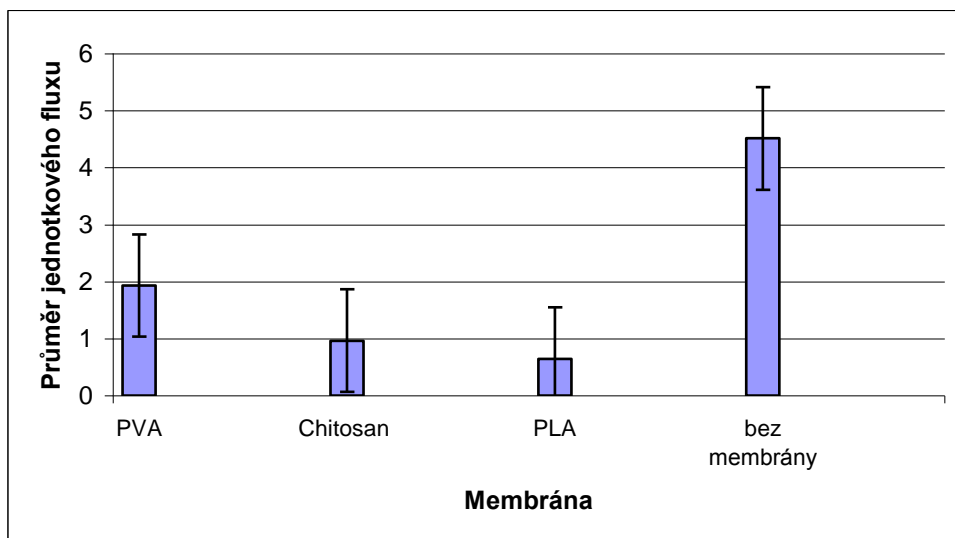
Grafem ustáleného stavu permeace závislosti  $Q_t$  [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ] na čase  $t$  [hod] je tedy přímka, jejíž směrnice odpovídá fluxu permeace. Pro srovnávání jednotlivých permeací je třeba eliminovat individuální vliv kůže, což je realizováno využitím podílu mezi fluxem při vlastní permeaci a fluxem při standardizaci. Tento poměr je označen jako jednotkový flux. Z těchto hodnot jednotkových fluxů byl pak pro jednotlivé membrány spočítán průměr, označený jako průměr jednotkového fluxu, s příslušnou směrodatnou odchylkou. Souhrnný přehled hodnot fluxů, jednotkových fluxů a jejich průměrů uvádí **tabulka 12**. Přehled průměru jednotkového fluxu se směrodatnou odchylkou v závislosti na druhu membrány je zobrazen následujícím sloupcovým grafem 8.

membrána	číslo kůže	flux standardizace	flux permeace	jednotkový flux	průměr jednotkového fluxu	směrodatná odchylka
PVA	1	9,1990	10,7371	1,1672	1,9308	0,8997
	2	2,2206	6,4901	2,9226		
	<b>3</b>	<b>5,5838</b>	<b>0,7590</b>	<b>0,1359</b>		
	4	2,9800	5,0739	1,70267		
Chitosan	5	3,7135	4,2596	1,1471	0,9632	0,1730
	6	2,7558	2,9027	1,0533		
	7	4,4521	3,3586	0,7544		
	8	2,1934	1,9694	0,8979		
PLA	<b>9</b>	<b>2,5937</b>	<b>0,1001</b>	<b>0,0386</b>	0,6472	0,3885
	10	1,9342	0,8368	0,4326		
	11	4,2286	1,7474	0,4132		
	12	2,4335	2,6662	1,0956		
bez membrány	25	3,7842	14,9988	3,9635	4,5133	1,2402
	26	1,6467	6,3649	3,8651		
	27	0,9727	6,1982	6,3721		
	28	3,2405	12,4840	3,8525		

**Tabulka 12: Přehled hodnot fluxů pro zkoumané impregnované membrány**

Při hodnocení výsledků permeace byly nalezeny dvě extrémní hodnoty (v **tabulce 12** psané kurzívou) odpovídající číslu kůže 3 a 9, které patrně značí

porušení integrity kůže. Tyto podezřelé hodnoty proto byly z dalšího zpracování, to znamená pro výpočet průměru jednotkového fluxu a směrodatné odchylky, vypuštěny a pro sestavení **grafu 8** byly eliminovány.

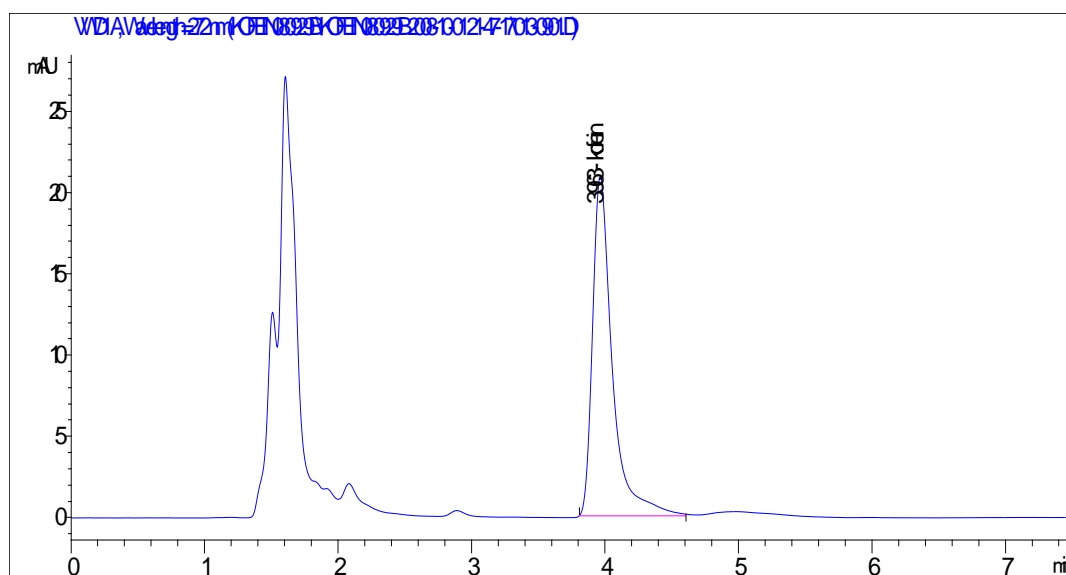


**Graf 8: Závislost průměrných hodnot jednotkového fluxu na druhu membrány**

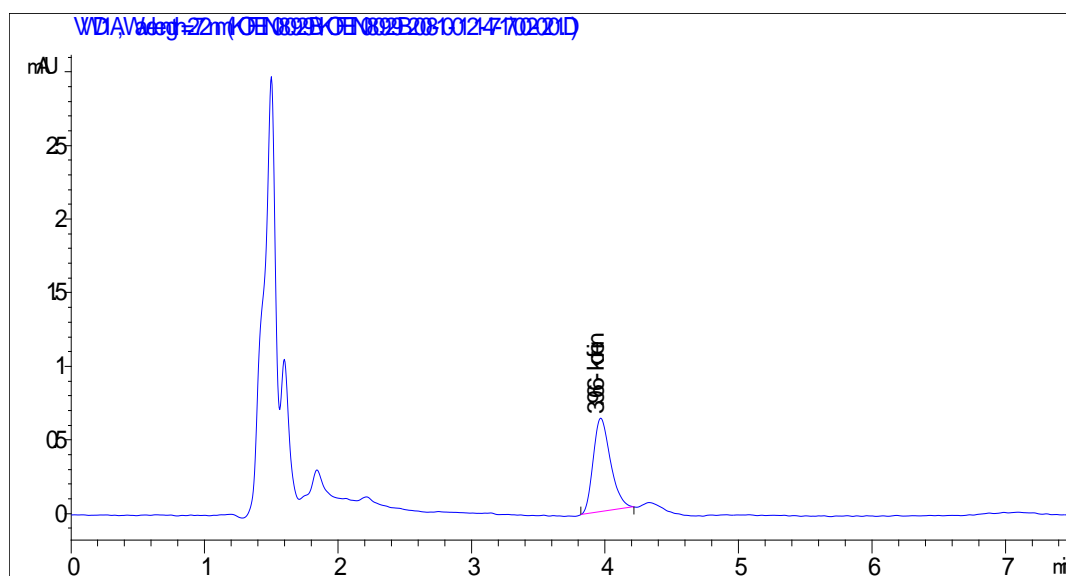
Při porovnání jednotlivých membrán poskytuje membrána PLA nejnižší hodnoty koncentrace uvolněného a prošlého permeantu s hodnotou průměru jednotkového fluxu 0,6472 [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hod}$ ]. Membráně Chitosan odpovídá hodnota průměru jednotkového fluxu 0,9632 [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hod}$ ]. Membrána PVA poskytuje průměr jednotkového fluxu o hodnotě 1,9308 [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hod}$ ], která odpovídá nejvyšší hodnotě koncentrace kofeinu v akceptorovém médiu ze všech tří membrán. Vzorky bez membrány, obsahující jen kofeinové vehikulum, poskytují průměr jednotkového fluxu o hodnotě 4,5133 [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hod}$ ].

Všechny membrány se chovaly v liberačně-permeačním pokusu stejně a ve srovnání s kontrolou (vzorky bez membrány) poskytují nižší koncentrace kofeinu v akceptorové fázi a uvolňování, tudíž i následný průnik, permeantu brzdí. Je třeba říct, že u vzorků bez membrány měla permeace mnohem lineárnější a ustálenější průběh.

Ukázku chromatografického záznamu ze stanovení kofeinu pro kalibrační závislost a ze stanovení kofeinu z permeačního měření poskytují následující **grafy 9 a 10**.



**Graf 9: Chromatogram vzorku č. 3 s membránou PVA z 15. hodiny permeace**



**Graf 10: Chromatogram standardního roztoku kofeinu (0,0099 mg/100 ml)**



## 7. ZÁVĚR

**1. Pevnost v tahu:** Byl potvrzen předpoklad, že tahové vlastnosti membrán mohou být ovlivněny předchozí radiační sterilizací materiálu a směrem měření. Společný klíč pro charakterizaci nalezen nebyl. U některého materiálu se pevnost v tahu sterilizací zvýšila a u dalšího naopak snížila, stejně tak tomu bylo i v případě směru měření.

U membrány Chitosan má sterilizace a směr měření minimální vliv na tahové vlastnosti. Řada sterilizovaná poskytuje hodnoty průměrného normalizovaného napětí  $\sigma_{Fnorm}$  0,32 MPa a 0,20 MPa v porovnání s řadou nesterilizovanou o hodnotách 0,31 MPa a 0,19 MPa, z čehož je možné usuzovat, že sterilizací se materiál zpevňuje. Ve směru příčném je materiál s hodnotami  $\sigma_{Fnorm}$  0,31 MPa a 0,32 MPa tahově pevnější než ve směru podélném s konkrétními hodnotami  $\sigma_{Fnorm}$  0,19 MPa a 0,20 MPa.

Membrána PLA v řadě sterilizované vykazuje hodnoty  $\sigma_{Fnorm}$  0,62 MPa a 1,73 MPa, zatímco řada nesterilizovaná 1,10 MPa a 1,88 MPa, což znamená, že sterilizací tahová pevnost membrány slábne. Směr příčný s hodnotami  $\sigma_{Fnorm}$  1,10 MPa a 0,62 MPa vykazuje menší pevnost než směr podélný o hodnotách  $\sigma_{Fnorm}$  1,88 MPa a 1,73 MPa.

Jiná a komplikovanější situace byla zjištěna u membrán PVA, u kterých nebylo možné jednotlivé vlivy směru měření a sterilizace navzájem vztahovat. Každá proměnná se chová ve vztahu k  $\sigma_{Fnorm}$  nezávisle.

**2. Smáčivost a hodnoty kontaktního úhlu:** Polymery, ze kterých jsou připraveny membrány, mají podle chemického složení hydrofilní charakter. Bylo zjištěno, že se při zkoušce na smáčivost jeví povrchy všech testovaných netkaných membrán jako nesmáčivé vodou, vodoresistentní. V řadě sterilizované se jako nejlipofilnější jeví membrána PVA s naměřenými hodnotami kontaktního úhlu voda/membrána/vzduch 61 ° a jako nejméně lipofilní membrána PLA o hodnotě 57 °. V řadě nesterilizované se nejvíce lipofilně chovala opět membrána PVA o hodnotě kontaktního úhlu 75 ° a jako nejméně lipofilně membrána Chitosan o hodnotě kontaktního úhlu 66 °. U všech tří membrán byly naměřené hodnoty kontaktních úhlů

v řadě nesterilizované vyšší než v řadě sterilizované. Na tomto základě je možné tvrdit, že se materiál sterilizací stává hydrofilnějším.

**3. Nasákavost:** Membrány jsou schopné pojmout a zadržet ve své struktuře určité množství hydrofilní kapaliny. Vzhledem k nanoheterogenitě jejich povrchu je však zapotřebí mechanické vpravení a dlouhodobější kontakt membrány s hydrofilní tekutinou. Nejvíce tekutiny je schopna pojmout a zadržet membrána PVA s hmotnostním přírůstkem 0,1827 g oproti suché membráně (14 cm<sup>2</sup>) a nejméně membrána Chitosan s hmotnostním přírůstkem 0,1063 g oproti suché membráně (14 cm<sup>2</sup>).

**4. Liberačně-permeační vlastnosti:** V porovnání s kapalným vehikulem, tedy u kontrolních vzorků bez membrány, je permeace kofeinu po impregnaci testovaných membrán nižší. Membrány tedy uvolňování a následně průnik tohoto středně polárního léčiva zpomalují a kofein na svém povrchu zadržují. Nejvíce je tento efekt patrný u membrány PLA o hodnotě průměru jednotkového fluxu 0,6472 [μg/cm<sup>2</sup>hod] a nejméně pak u membrány PVA o hodnotě 1,9308 [μg/cm<sup>2</sup>hod] v porovnání s kontrolními vzorky o hodnotě průměru jednotkového fluxu 4,5133 [μg/cm<sup>2</sup>hod].

**5. Konkrétnější závěry i obecné zákonitosti** týkající se vlastností a použití membrán bude možné formulovat po dalších testech.

Předložená diplomová práce je jednou z prvních, které danou problematiku řeší, a je součástí širšího výzkumného záměru na Katedře farmaceutické technologie UK-FAF.

## 8. SOUHRN

Práce se zabývá hodnocením základních vlastností nanovláknenných membrán z polyvinylalkoholu, chitosanu a kyseliny (D,L) polymléčné ve spojitosti s jejich možným použitím jako nosiče léčiv. V práci je podána stručná charakteristika elektrospiningu jako metody výroby netkaných textilií a nanovláknenných materiálů, polymerů, ze kterých jsou připraveny zkoušené nanovláknenné membrány, a použitých zkušebních metod. V kontextu s jejich potenciálním použitím v oblasti aplikace léčiv byly shrnuty transdermální léčivé přípravky uvedené v databázi AISLP.

Byly testovány vybrané fyzikální charakteristiky tří chemických typů netkaných nanovláknenných membrán, které byly vyrobeny v laboratořích firmy ELMARCO Liberec. V experimentální části práce byly studovány tahové vlastnosti, hydrofilně-lipofilní charakter povrchu a sorpčně-liberační chování membrán při permeačním in vitro pokusu, při kterém byl jako modelové léčivo použit kofein.

Tahové vlastnosti membrán jsou ovlivněny předchozí radiační sterilizací materiálu a směrem měření. Společný klíč pro charakterizaci všech tří membrán nalezen nebyl. Membrána Chitosan se stává sterilizací materiálem pevnějším a ve směru příčném je tahově silnější. Membrána PLA sterilizací slábne a směr příčný je tahově slabší. Při zkoušce na smáčivost se všechny tři membrány jeví jako nesmáčivé vodou, vodoresistentní. V řadě nesterilizované je nejlipofilnější membránou membrána PVA a nejhydrofilnější membránou membrána Chitosan. V řadě sterilizované je nejlipofilnější membrána PVA a nejméně membrána PLA. U všech tří membrán bylo zjištěno, že se materiál sterilizací stává hydrofilnějším.

Při zkoušce nasákavost byly všechny tři membrány schopné pojmout určité množství hydrofilní kapaliny – nejvíce membrána PVA a nejméně membrána Chitosan. V liberačně-permeačním pokusu se všechny membrány chovaly stejně a ve srovnání s kontrolou poskytovaly nižší koncentrace kofeinu v akceptorové fázi a uvolňování, tudíž i následný průnik, permeantu brzdí. Nejvíce permeaci kofeinu omezila membrána PLA a nejméně permeaci zpomalila membrána PVA.

Získané výsledky jsou součástí širšího výzkumu na UK-FaF v Hradci Králové.

## 9. ABSTRACT

Diploma thesis concerns with the evaluation of the basic properties of the nanofibre membranes that are made of polyvinylalcohol, chitosan and (D,L) polylactic acid in connection with their possible use as carriers of drugs. Thesis characterizes electrospinning as a method of production of nonwoven textiles and nanofibre materials, polymers that were used in preparation of the nanofibre membranes under experiments, and testing methods that were used. Transdermal pharmaceuticals declared in the AISLP database were summarized in the connection with their possible use in drug administration.

The selected physical characteristics of three chemical types of the nonwoven nanofibre membranes made in laboratories ELMARCO Liberec were investigated. The tensile stress properties, hydrophile-lipophile character of surface and absorption-release properties of the membranes were studied at a permeation in vitro study using caffeine as a model drug in the experimental part of my work.

Tensile properties of membranes are affected by previous radiation sterilization and direction of testing. General characterization of all membranes was not found. Chitosan membrane becomes firmer material after sterilization and it is also tougher in transverse tensile force. PLA membrane is weak after sterilization and also transverse tensile force of it is weak. In wetting measurements, all membranes were water-unwetable, thus water resistant. Within the unsterilized samples PVA membrane is the most lipophilic and Chitosan membrane is the most hydrophilic. In sterilized group of samples PVA is the most lipophilic and PLA is the least. All three membranes become more hydrophilic after sterilization.

At absorptivity testing all membranes were able to keep some quantity of hydrophilic liquid - PVA membrane the most, Chitosan membrane the least. At the release-permeation tests all membranes behaved in the same way and they afforded lower concentration of caffeine in acceptor liquid and release a less amount of the drug than controls, so they retard permeation. PLA membrane limits caffeine permeation the most, PVA retards it the least.

Obtained outcomes are part of the wider study at UK-FaF in Hradec Králové.

## 10. SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Kalibrační přímka kofeinu .....	58
Graf 2: Srovnání hodnot $\sigma_{Fmax}$ tahových zkoušek membrán z PVA.....	110
Graf 3: Srovnání hodnot $\sigma_{Fnorm}$ tahových zkoušek membrán z PVA .....	110
Graf 4: Srovnání hodnot $\sigma_{Fmax}$ tahových zkoušek membrán z Chitosanu .....	112
Graf 5: Srovnání hodnot $\sigma_{Fnorm}$ tahových zkoušek membrán z Chitosanu .....	112
Graf 6: Srovnání hodnot $\sigma_{Fmax}$ tahových zkoušek membrán z PLA .....	114
Graf 7: Srovnání hodnot $\sigma_{Fnorm}$ tahových zkoušek membrán z PLA.....	114
Graf 8: Závislost průměrných hodnot jednotkového fluxu na druhu membrány .....	119
Graf 9: Chromatogram vzorku č. 3 s membránou PVA z 15. hodiny permeace .....	120
Graf 10: Chromatogram standardního roztoku kofeinu (0,0099 mg/100 ml).....	120

## 11. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Schéma sestavy a principu elektrostatického zvlákňování <sup>7</sup> .....	16
Obr. 2: Taylorův kužel <sup>7</sup> .....	17
Obr. 3: Princip elektrostatického zvlákňování a elektrostatického rozprašování <sup>7</sup> .....	18
Obr. 4: Vliv hodnoty napětí na formaci Taylorova kužele <sup>8</sup> .....	21
Obr. 5: Ukázka elektrospiningu dle uspořádání <sup>8</sup> .....	24
Obr. 6: Struktura vlákna s korálovými defekty <sup>7</sup> .....	26
Obr. 7: Příklad průběhu křivky síla-tažnost <sup>32</sup> .....	36
Obr. 8: Průvodní list k membráně PVA.....	38
Obr. 9: Průvodní list k membráně CHITOSAN.....	39
Obr. 10: Průvodní list k membráně PLA .....	40
Obr. 11: Náčrtek kůže číslo 24, 25. 9. 2008.....	43
Obr. 12: Náčrtek kůže číslo 15, 25. 9. 2008.....	43
Obr. 13: Tloušťkoměr.....	46
Obr. 14: Rozložená permeační cela.....	49
Obr. 15: Složená permeační cela.....	49
Obr. 16: Vodní lázeň s vloženými permeačními celami .....	50
Obr. 17: Membrány napuštěné vehikulem s kofeinem.....	53
Obr. 18: Analytický set Agilent Technologies.....	57
Obr. 19: Kontaktní úhel PVA nest.....	73
Obr. 20: Kontaktní úhel PVA steril. ....	73
Obr. 21: Kontaktní úhel Chitosan nest.....	73
Obr. 22: Kontaktní úhel Chitosan steril.....	74
Obr. 23: Kontaktní úhel PLA nest.....	74
Obr. 24: Kontaktní úhel PLA steril.....	74
Obr. 25: Ilustrativní průběh permeační křivky .....	117

## 12. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Přehled LP pro transdermální aplikaci uvedených v AISLP <sup>4</sup> .....	9
Tabulka 2: Hodnocení vzhledu membrány napuštěné vehikulem.....	52
Tabulka 3: Hodnocení vzhledu membrány napuštěné vehikulem s mikronizovaným kofeinem.....	54
Tabulka 4: Hmotnosti vyražených koleček pro výpočet množství kofeinu obsaženého ve vyraženém kolečku .....	55
Tabulka 5: Rozložení vzorků v permeačních celách při standardizaci a při vlastní permeaci.....	56
Tabulka 6: Časové schéma permeace .....	56
Tabulka 7: Výsledky tahových zkoušek netkaných membrán z PVA.....	109
Tabulka 8: Výsledky tahových zkoušek netkaných membrán z Chitosanu .....	111
Tabulka 9: Výsledky tahových zkoušek netkaných membrán z PLA .....	113
Tabulka 10: Průměrné hodnoty kontaktního úhlu voda/membrána/vzduch .....	115
Tabulka 11: Hodnoty hmotnosti charakterizující nasákavost materiálu .....	116
Tabulka 12: Přehled hodnot fluxů pro zkoumané impregnované membrány .....	118

## 13. SEZNAM ZKRATEK

AdS	Adeps solidus
AISLP	Automatizovaný informační systém léčivých přípravků
$A_o$	tloušťka membrány
AUC	plocha pod křivkou
$C_k$	korigovaný koncentrační údaj, zohledňující průběžný odběr a doplňování akceptorové fáze
$C_{nk}$	nekorigovaná koncentrace
$\Delta V_{dop}$	objem odebírané a přidávané fáze
DRM EMP TDR	transdermální náplast
$\varepsilon F_{max}$	tažnost při maximální síle
$\varepsilon l_{om}$	tažnost při přetržení
$F_{lom}$	síla při přetržení
$F_{max}$	maximální síla
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IPM	isopropylmyristát
J	flux, tok permeantu v ustáleném stavu
KA:I 8:2	vehikulum AdS : IPM (8:2) s mikronizovaným kofeinem
$L_o$	výchozí délka membrány
LP	léčivý přípravek
n	počet vzorků
nest.	nesterilizováno
NT	netkaná textílie
P	vlastní permeace
PG	propylenglykol
PLA	polymléčná kyselina
PVA	polyvinylalkohol
PVAc	polyvinylacetát



$Q_t = Q_{t(exp)} [ \mu g / cm^2 ]$	skutečné množství permeantu prošlé přes kožní štěp o ploše $1 cm^2$ do akceptorové fáze
$Q_t [ \mu g ]$	skutečné množství permeantu prošlé přes kožní štěp do akceptorové fáze
$Q_{t(teor)} [ \mu g / cm^2 ]$	množství permeantu prošlé přes kožní štěp o ploše $1 cm^2$ do akceptorové fáze, odečtené z regresivní křivky
Řada A	řada nesterilizovaná
Řada B	řada sterilizovaná
S	standardizace
$\sigma F_{max}$	napětí odpovídající síle $F_{max}$
$\sigma F_{norm}$	normalizované napětí
5% SK	5% suspenze kofeinu
steril.	sterilizováno
t	čas
TUL	Technická univerzita v Liberci
$V_o$	objem akceptorové fáze

## 14. SEZNAM LITERATURY

---

- <sup>1</sup> BENEŠ, Michal. *Nanovláknenné membrány jako nosiče léčiv 1. Chitosan, polyamid 6, polyurethan*. [s.l.], 2009. Univerzita Karlova v Praze Farmaceutická fakulta v Hradci Králové . Vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.
- <sup>2</sup> KREJČOVÁ, Markéta. *Nanovláknenné membrány jako nosiče léčiv. 3. Polyurethan, polyvinylalkohol, polykaprolakton, polyakrylonitril*. [s.l.], 2009. Univerzita Karlova v Praze Farmaceutická fakulta v Hradci Králové . Vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.
- <sup>3</sup> IHRACZKÁ, Jana. *Nanovláknenné membrány jako nosiče léčiv 4. Polyethylentetrafluorethylen, polyamid 6/12, polyaramid, želatina*. [s.l.], 2009. Univerzita Karlova v Praze Farmaceutická fakulta v Hradci Králové . Vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.
- <sup>4</sup> *Micro-verze A/SLP* [CD-ROM]. 2009.1. [cit. 2009-03-05].
- <sup>5</sup> JIRSÁK, Oldřich, KALINOVÁ, Klára. *Netkané textilie*. 1. vyd. Liberec : Technická univerzita v Liberci, v září 2003. 129 s.
- <sup>6</sup> MARTINOVÁ, Lenka. *Průvodce studiem netkaných textilií*. 1. vyd. Liberec : Technická univerzita v Liberci, 2003. 29 s.
- <sup>7</sup> RŮŽIČKOVÁ, Jana. *Elektrostatické zvlákňování nanovláken*. 2. nezměněné vyd. Liberec : Technická univerzita v Liberci, v květnu 2006. 54 s.
- <sup>8</sup> SILL, Travis J., VON RECUM, Horst A. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *ScienceDirect : Biomaterials* [online]. May 2008, vol. 29, is. 13 [cit. 2009-03-03], s. 1989-2006.
- <sup>9</sup> ZOUZALÍK, Marek. Unikátní technologie výroby nanovláken vznikla v ČR!. *21@STOLETÍ* [online]. 21.01.2005 [cit. 2009-03-03].  
Dostupný z WWW: <<http://www.21stoleti.cz/view.php?cislocclanku=2005012122>>.
- <sup>10</sup> Profiwebdesign. Elmarco-Nano for live-Nanospider [online]. 2002-2007 , 24.února 2009 [cit. 2009-03-03]. Dostupný z WWW: <<http://www.elmarco.com/obsah.php?id=25&s=25>>.
- <sup>11</sup> HONZÍK, Roman. Plasty se zkrácenou dobou použitelnosti a jejich biodegradace. *Bion.cz* [online]. 18.08.2004 [cit. 2009-03-05]. Dostupný z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/plasty-se-zkracenou-zivotnosti-a-zpusoby-jejich-degradace>>.
- <sup>12</sup> DUCHÁČEK , Vratislav. *Polymery-výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. 2. vyd. Praha : Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2006. 280 s.

- 
- <sup>13</sup> DOLEŽAL, Vladimír. *Plastické hmoty*. 3. přeprac.dopl. vyd. Praha : Státní nakladatelství technické literatury, 1977. 385 s.
- <sup>14</sup> BLAŽEJ, Anton, POKLUDOVÁ, Eva. *Polyméry v kožiarskom, obuvníckom a galantérnom priemysle*. 1. vyd. Praha : Státní nakladatelství technické literatury, 1980. 361 s.
- <sup>15</sup> MLEZIVA, Josef. *Polymery-výroba, struktura, vlastnosti a použití*. 1. vyd. Praha : Sobotáles, 1993. 525 s.
- <sup>16</sup> SWARBRICK, James. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology : Volume 2*. 3rd edition. New York : Informa Healthcare USA, Inc., 2007.
- <sup>17</sup> ALEKSEIVA, Penka, PETRICHEVA, Elka, KONSTANTINOV, Hristo. Enhancement of acid proteinase production by the fungus *Humicola lutea* 120-5 immobilized in crosslinked poly(vinyl alcohol) mixed with poly(ethylene glycol). *Process Biochemistry* [online]. September 1998, vol. 33, is. 7 [cit. 2009-03-05], s. 725-728.
- <sup>18</sup> CHANG, Chih-Cheng , TSENG, Szu-Kung . Immobilization of *Alcaligenes eutrophus* using PVA crosslinked with sodium nitrate . *Biotechnology Techniques* [online]. December 1998, vol. 12, no. 12 [cit. 2009-03-05], s. 865-868.
- <sup>19</sup> ABDEL-MOTTALEB , Mona M. A., et al. Physically Cross-Linked Polyvinyl Alcohol for the Topical Delivery of Fluconazole . *Drug Development and Industrial Pharmacy* [online]. May 2008, vol. 35, is. 3 [cit. 2009-03-05], s. 311-320.
- <sup>20</sup> BADER, Rebecca A. Synthesis and viscoelastic characterization of novel hydrogels generated via photopolymerization of 1,2-epoxy-5-hexene modified poly(vinyl alcohol) for use in tissue replacement. *Acta Biomaterialia* [online]. July 2008, vol. 4, is. 4 [cit. 2009-03-05], s. 967-975.
- <sup>21</sup> ZHANG, Lei, YU, Ping , LUO, Yunbai. Dehydration of caprolactam–water mixtures through cross-linked PVA composite pervaporation membranes. *Journal of Membrane Science* [online]. 1 December 2007, vol. 306, is. 1-2 [cit. 2009-03-05], s. 93-102.
- <sup>22</sup> BERNKOPFOVÁ, Světlana. *Stabilita biopolymery modifikovaných PVA blendů v anaerobním prostředí*. [s.l.], 2007. 58 s. UTB ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí diplomové práce Prof. Ing. Jan Kupec, CSc.
- <sup>23</sup> SATPATHY, Tarun Kumar. Chitosan Used In Pharmaceutical Formulations : A Review. *Pharmaceutical Reviews* [online]. 2008, vol. 6, is. 3 [cit. 2009-03-05].
- <sup>24</sup> VAVŘÍKOVÁ, Eva, VINŠOVÁ, Jarmila. Chitosan a jeho farmaceutické aplikace. *Chemické listy* [online]. 2009, volume 103, issue 1 [cit. 2009-03-05], s. 56-65.

- 
- <sup>25</sup> INOTEX s.r.o. (Martinková, Marek). *Textilie pro speciální aplikace, 3. etapa: Textilie z odpadních a recyklovaných materiálů, 3.2 Námětová studie o využitelnosti mycelárních odpadů z kyseliny citrónové v textilním průmyslu*. 2004. 24 s. Souhrnná zpráva  
Dostupný z WWW:  
<[http://centrum.tul.cz/centrum/centrum/3Aplikace/3.1\\_zaverecne\\_zpravy/%5B3.1.03%5D.pdf](http://centrum.tul.cz/centrum/centrum/3Aplikace/3.1_zaverecne_zpravy/%5B3.1.03%5D.pdf)>.
- <sup>26</sup> KRULA, Martin. *Textilie v novém tisíciletí III : Militký, J.: Textil a medicína* [online]. 2005 , 20. června 2005 [cit. 2008-03-06].  
Dostupný z WWW: <<http://www.ft.vslib.cz/depart/ktt/konference/textilie3/index.html>>.
- <sup>27</sup> US EPA. *Pesticides: Regulating Pesticides : Chitosan; Poly-D-glucosamine (128930) Fact Sheet* [online]. 2007 , 10.10.2008 [cit. 2009-02-26]. Dostupný z WWW:  
<[http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/factsheets/factsheet\\_128930.htm](http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/factsheets/factsheet_128930.htm)>.
- <sup>28</sup> HIRANO , Shigehiro , NOISHIKI , Yasuharu . The blood compatibility of chitosan and N-acetylchitosans. *Journal of Biomedical Materials Research* [online]. 14 Sep 2004, vol. 19, is. 4 [cit. 2009-03-06], s. 413-417.
- <sup>29</sup> Medtrade Products Ltd . *Celox Home* [online]. c2009 , 26.02.2009 [cit. 2009-02-26]. Dostupný z WWW: <<http://celoxmedical.com/index.htm>>.
- <sup>30</sup> GUPTA, Bhuvanesh , REVAGADE, Nilesh , HILBORN, Jöns. Poly(lactic acid) fiber: An overview. *Progress in Polymer Science* [online]. April 2007, vol. 32, is. 4 [cit. 2009-03-06], s. 455-482.
- <sup>31</sup> RABIŠKOVÁ, Miloslava. Nanočástice pro lékové formy. *Remedia* [online]. 17.5.2007, 17 [cit. 2009-03-06], s. 495-501.
- <sup>32</sup> ČSN EN ISO 13934-1. *Textilie-Tahové vlastnosti plošných textílií-Část 1: Zjišťování maximální síly a tažnosti při maximální síle pomocí metody Strip*. Praha : Český normalizační institut, 1999. 16 s.
- <sup>33</sup> Standartní operační postup Laboratoře transdermálních permeací, Katedra farmaceutické technologie, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Standartní operační postup Zpracování ušních boltců bachyň pro permeační pokusy, 2006
- <sup>34</sup> Standartní operační postup Laboratoře transdermálních permeací, Katedra farmaceutické technologie, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Standartní operační postup Zpracování intaktní prasečí kůže, 2006.
- <sup>35</sup> NEDBÁLKOVÁ, Iva. *Permeační in vitro studie stability transkarbamu 12 v oleokrémech* . [s.l.], 2008. 98 s. Univerzita Karlova v Praze Farmaceutická fakulta v Hradci Králové . Vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.